

## Exposition des populations aux pesticides dans l'environnement

# Biomarqueurs : comparaison de différents biomarqueurs de l'exposition au chlorpyrifos et biomarqueurs urinaires des pyréthriinoïdes dans une population rurale du Québec

Période : mars 2009 à août 2009

Ghislaine BOUVIER

Université Victor Segalen Bordeaux 2 – Laboratoire Santé, Travail, Environnement EA3672 ISPED – Bordeaux

Mots clés : Biomarqueurs, Exposition, Insecticides, Métabolites

Le recours aux biomarqueurs dans l'évaluation de l'exposition aux pesticides les plus utilisés actuellement, et notamment les insecticides, fait l'objet de nombreuses publications.

Cependant, de nombreuses validations restent à faire, moins en termes analytiques (les méthodes mises au point sont de plus en plus performantes) qu'en termes de précautions à prendre dans l'interprétation des résultats obtenus. Les deux articles analysés dans cette note traiteront de ce sujet, le premier concernant le chlorpyrifos, un insecticide organophosphoré et le second des insecticides de la famille des pyréthriinoïdes.

### Étude de validation de différents biomarqueurs de l'exposition prénatale au chlorpyrifos dans une cohorte mère-enfant

#### Analyse

L'étude de **Whyatt et al. (2009)** est la suite de celle présentée dans le *Bulletin de veille scientifique* numéro 8 de l'Afsset (Williams et al., 2008). Elle traite toujours de la cohorte mère - enfant de New York City, suivie par le CCCEH<sup>(1)</sup>. Dans cet article, différents types de biomarqueurs de l'exposition au chlorpyrifos (CPF<sup>(2)</sup>) ont été étudiés et comparés : CPF dans le sang maternel et le sang de cordon, TCP<sup>(3)</sup> (trichloropyridinol, principal métabolite du chlorpyrifos) dans les urines de la mère (pré et postnatales), les urines du nouveau-né et le méconium.

Les objectifs étaient multiples : premièrement, il s'agissait d'étudier la variabilité intra- et inter-individuelle de l'excrétion urinaire au moyen de prélèvements répétés chez la mère, en pré et en post-natal. Un second objectif était de comparer les résultats fournis par les différents biomarqueurs et notamment d'étudier les corrélations entre eux, ainsi qu'avec les mesurages dans l'air. Enfin, la période de recrutement s'étalant de 2001 à 2004, le dernier objectif était de rechercher une éventuelle évolution de l'exposition au chlorpyrifos consécutive à l'interdiction de celui-ci dans les usages résidentiels en 2001.

Un total de 102 femmes sur les 725 incluses dans la cohorte ont participé à cette étude. Un questionnaire d'entrée et un

questionnaire complémentaire, administré à chaque visite (à partir de la 32<sup>e</sup> semaine de grossesse) ont permis de renseigner les usages de pesticides utilisés pendant la grossesse. Parallèlement, un mesurage d'air individuel et des mesurages d'air intérieur des logements ont été effectués. Soixante-quatre paires sang mère/sang cordon, 59 échantillons d'urines de nouveau-nés, 73 échantillons d'urines maternelles postnatales et 83 méconiums, ainsi qu'une moyenne de 2,6 échantillons d'urines prénatales par femme ont été récoltés.

Au total, 91 % des femmes ont vu des nuisibles dans leur logement pendant la grossesse, des cafards principalement et cela a donné lieu à l'utilisation de pesticides pour 61 % des femmes (29 % ont utilisé des sprays, 32 % des moyens moins « nocifs » de type pièges...). Le TCP était détecté dans plus de 40 % des échantillons d'urines maternelles, mais dans aucune urine de nouveau-né. Dans tous les types de prélèvement, une forte décroissance des fréquences de détection et des niveaux était observée entre les périodes 2001-2002 et 2003-2004 ; ainsi le TCP dans les échantillons d'urines passait de 80-90 % à 30 %, dans le méconium de 64 % à 0 % et le CPF dans le sang de 20-30 % à 0 % de détection.

Les niveaux de TCP dans les différents échantillons d'urine d'une même femme étaient corrélés entre eux, avec une concordance moyenne (coefficient de corrélation intra-classe de 0,43). Les niveaux de TCP urinaires étaient corrélés significativement aux niveaux de CPF dans l'air (coefficient de corrélation  $R \leq 0,50$ ), et plus modestement aux niveaux de TCP dans le méconium ;

seul ce dernier était modérément corrélé aux niveaux de CPF dans le sang. Les niveaux de CPF dans le sang de cordon étaient fortement corrélés (coefficient de corrélation  $R = 0,90$ ) aux niveaux dans le sang maternel. Jusqu'en 2002, les niveaux de CPF dans l'air intérieur expliquaient 19 % de la variance des niveaux de TCP urinaires.

Tous les mesurages dans cette cohorte mettent en évidence une chute drastique des expositions au CPF, consécutive à l'arrêt de sa commercialisation dans les produits à usage domestique aux États-Unis. Les auteurs remarquent que le méconium est un biomarqueur intéressant, corrélé aux dosages urinaires et sanguins et reflète l'exposition fœtale pendant plusieurs mois contrairement au dosage sanguin. Leurs travaux futurs porteront sur les liens entre exposition fœtale (estimée *via* le méconium notamment) et le développement néonatal. Ils notent également qu'un seul prélèvement urinaire chez la mère semble insuffisant pour estimer correctement les expositions, étant donnée la médiocre concordance intra-individuelle.

#### Commentaire

Cet article vient augmenter le champ des connaissances concernant l'évaluation de l'exposition aux pesticides *via* le recours aux biomarqueurs et a le grand mérite d'avoir comparé divers mesurages très souvent effectués indépendamment les uns des autres. La méthodologie analytique est rigoureuse et permet d'obtenir de faibles niveaux de détection et d'incertitude sur les résultats des mesures (Olsson *et al.*, 2004). Le CPF continue à être autorisé aux États-Unis pour les usages agricoles, donc les baisses de niveaux d'exposition observées dans cette étude confirment que l'exposition domestique constitue une part non négligeable de l'exposition totale de la population générale. Cependant, nous remarquerons que la population étant très homogène (femmes enceintes d'origine afro-américaine ou caribéenne des quartiers défavorisés de New York City) les résultats ne sont pas forcément extrapolables au reste de la population. En outre, hormis les urines maternelles, les autres prélèvements ont été plus difficiles à collecter, ce qui est problématique pour évaluer leur intérêt surtout concernant le sang de cordon et les urines de nouveau-nés. Le faible nombre de femmes incluses (102 sur 4 ans) et l'inégale répartition sur les 4 années semble également un peu insuffisants pour effectuer des comparaisons valables entre années.

Enfin, le manque de concordance observé entre prélèvements d'urines peut être dû pour partie à l'absence d'homogénéité dans le moment du recueil; or il est établi maintenant que pour les pesticides non persistants, le recueil premières urines du matin est le meilleur moyen de refléter correctement l'exposition de la journée passée (Kissel *et al.*, 2005).

## Évaluation de l'exposition d'une population rurale du Québec aux pyréthrinoides via le dosage de biomarqueurs urinaires

### Analyse

L'article de **Couture *et al.* (2009)** relate l'étude transversale menée durant l'été 2006 évaluant l'exposition aux pyréthrinoides *via* le dosage de métabolites urinaires d'une population rurale (adultes et enfants) de Montérégie au Québec. Les auteurs soulignent que cette exposition est méconnue et mérite d'être étudiée du fait de l'usage très important des pyréthrinoides et de leurs possibles effets neurotoxiques (Soderlund *et al.*, 2002).

Après sélection par tirage au sort sur listes électorales et envoi d'un courrier, seuls 3,5 % des personnes sollicitées ont répondu favorablement. Au total, 49 enfants de 6-12 ans et 114 adultes de 18-70 ans ont participé (initialement prévu: 120 enfants et 120 adultes). Un auto-questionnaire renseignant les sources d'exposition (activités, utilisations, alimentation) a été renseigné en même temps que le recueil des urines (à partir de 18 heures jusqu'au lendemain matin). Six métabolites urinaires de pyréthrinoides ont été mesurés: cis et trans DCCA<sup>(4)</sup>, PBA<sup>(5)</sup>, DBCA<sup>(6)</sup>, FPBA<sup>(7)</sup> et CDCA<sup>(8)</sup>. La méthode d'analyse chimique (CG-SM)<sup>(9)</sup> et les contrôles qualité semblent rigoureux. La somme molaire des métabolites carboxyliques (TCA)<sup>(10)</sup> a ensuite été calculée. Les concentrations excrétées ont été standardisées et exprimées en pmol/kg poids/12h afin de faciliter les comparaisons entre individus.

Les trois métabolites les plus fréquents (> 90 % de détection) étaient les cis/trans DCCA et le PBA présentant également les niveaux (médians et maxima) les plus élevés; leurs niveaux étaient corrélés (coefficient de corrélation  $R \geq 0,70$ ). Le CDCA était présent dans plus de 50 % des urines sans corrélation avec les métabolites précédents. La somme TCA était corrélée au taux de PBA (coefficient de corrélation  $R = 0,66$ ). Les 95<sup>es</sup> percentiles étaient jusqu'à dix fois supérieurs aux niveaux médians indiquant qu'une frange de la population est exposée à des niveaux bien supérieurs au reste de la population, observation fréquente dans les études d'exposition environnementale. Les niveaux de métabolites des enfants étaient légèrement supérieurs à ceux des adultes, sans être statistiquement significatifs. Une consommation supérieure à quatre fruits et légumes par jour ainsi qu'habiter à moins de 100 mètres de vergers étaient deux facteurs associés à des taux de PBA légèrement supérieurs. Des associations inverses entre taux de cis/trans DCCA et exposition professionnelle, de PBA et cis DCCA et alimentation biologique, étaient retrouvées.

Les auteurs en concluent que la population d'étude est principalement exposée à la cyperméthrine, à la cyfluthrine et à la perméthrine ainsi qu'aux pyréthrinoides naturelles tant en termes de proportion de population touchée que de niveaux de contamination. Ces conclusions sont similaires aux précédentes concernant une population citadine du Québec et une population rurale de Californie (Fortin *et al.*, 2008; Bradman *et al.*, 2007). Plus généralement, leurs résultats sont du même ordre de grandeur que ceux de l'étude NHANES<sup>(11)</sup> aux États-Unis (Centers for Disease

## Biomarqueurs : comparaison de différents biomarqueurs de l'exposition au chlorpyrifos et biomarqueurs urinaires des pyréthrinoïdes dans une population rurale du Québec – Ghislaine BOUVIER

Control, 2005) et ceux de Becker *et al.* (2006) en Allemagne. Les auteurs remarquent que les niveaux semblent modérément supérieurs dans leur population rurale comparativement à la population citadine étudiée précédemment (Fortin *et al.*, 2008). Les associations statistiques observées avec les réponses aux items du questionnaire ne sont pas concluantes voire même contraires aux résultats attendus et non cohérentes pour les différents métabolites, même pour ceux fortement corrélés entre eux; aussi elles peuvent être fortuites dues au grand nombre de tests réalisés.

### Commentaire

On retrouve dans cet article les limites, déjà observées par ailleurs, du recours au dosage de métabolites dans un seul échantillon d'urines isolé même si ici l'échantillon reflète l'exposition pendant une période similaire pour tous les sujets. Le très faible taux de participation qui aurait pu être amélioré par des relances téléphoniques, conduit à de trop petits effectifs ne permettant pas d'atteindre les objectifs. Cette étude couplée avec la précédente (Fortin *et al.*, 2008) permet de comparer l'exposition aux pyréthrinoïdes, qualitative et quantitative, dans deux populations, l'une citadine et l'autre rurale mais géographiquement et temporellement proches. Il en ressort que ces populations présentent des niveaux d'exposition comparables, contrairement à ce qu'affirment les auteurs. En effet, les niveaux médians de la publication précédente étaient légèrement inférieurs à ceux présentés ici, mais les 95<sup>es</sup> percentiles étaient supérieurs et les fréquences de détection similaires. Enfin, le questionnaire semble incomplet, insuffisamment détaillé et ne couvrant pas une période bien définie, ce qui peut contribuer à expliquer le manque d'association entre biomarqueurs et réponses. Compte tenu des résultats présentés, nous soulignerons également la difficulté de mettre en évidence la part des expositions liées à l'environnement domestique, à l'alimentation et au contexte professionnel.

### CONCLUSION GÉNÉRALE

L'article de Whyatt *et al.* (2009) présente un grand intérêt car il permet de comparer les résultats obtenus avec différents biomarqueurs dans l'évaluation des expositions aux pesticides. Cependant, il ne concernait que le chlorpyrifos, des études comparatives sur d'autres molécules très utilisées seraient intéressantes également.

L'étude de Couture *et al.* (2009) permet de distinguer les pyréthrinoïdes à laquelle la population de cette région du Québec semble la plus exposée sans mettre en évidence de source évidente pouvant expliquer les différences d'exposition entre individus, pourtant importantes.

Le recours au méconium apparaît de plus en plus comme une piste intéressante pour l'évaluation des expositions fœtales aux pesticides. Son recueil aisé et non invasif (dans les couches à la maternité), la période d'exposition couverte (plusieurs mois durant la vie fœtale) et la bonne sensibilité (fréquences de détection, corrélation avec les autres indicateurs biologiques d'exposition), lui confèrent beaucoup d'avantages par rapport au sang de cordon ou aux urines néonatales.

Concernant l'utilisation des urines, il est important de retenir qu'un dosage isolé sans autre mesurage et en l'absence d'un questionnaire détaillé et précis, est insuffisant pour évaluer correctement l'exposition d'individus aux pesticides. Les variabilités intra-individuelles ainsi qu'inter-individuelles ne permettent pas de classer correctement les sujets en terme de niveaux d'exposition.

### Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Biomarkers, Home/environmental/residential exposure, Human, Pesticide.

### Publications analysées

Couture C, Fortin MC, Carrier Gt *et al.* Assessment of exposure to pyrethroids and pyrethrins in a rural population of the Montérégie area, Quebec, Canada. *J. Occup. Environ. Hyg.* 2009; 6(6):341-52.

Whyatt RM, Garfinkel R, Hoepner LA *et al.* A biomarker validation study of prenatal chlorpyrifos exposure within an inner-city cohort during pregnancy. *Environ. Health Perspect.* 2009; 117(4):559-67.

## Publications de référence

- Becker K, Seiwert M, Angerer J et al.** GerES IV pilot study: assessment of the exposure of German children to organophosphorus and pyrethroid pesticides. *Int J Hyg Environ Health* 2006; 209(3):221-33.
- Bradman A, Whitaker D, Quirós L et al.** Pesticides and their metabolites in the homes and urine of farmworker children living in the Salinas Valley, CA. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2007; 17(4):331-49.
- Carlton EJ, Moats HL, Feinberg M et al.** Pesticide sales in low-income, minority neighborhoods. *J Community Health.* 2004; 29(3):231-44.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. National Center for Environmental Health. Atlanta. 2005.
- Fortin MC, Bouchard MI, Carrier Gt et al.** Biological monitoring of exposure to pyrethrins and pyrethroids in a metropolitan population of the Province of Quebec, Canada. *Environ. Res.* 2008; 107(3):343-50.
- Kissel JC, Curl CL, Kedan G et al.** Comparison of organophosphorus pesticide metabolite levels in single and multiple daily urine samples collected from preschool children in Washington State. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.* 2005; 15(2):164-71.
- Olsson AO, Baker SE, Nguyen JV et al.** A liquid chromatography-tandem mass spectrometry multiresidue method for quantification of specific metabolites of organophosphorus pesticides, synthetic pyrethroids, selected herbicides, and deet in human urine. *Anal. Chem.* 2004; 76(9):2453-61.
- Soderlund DM, Clark JM, Sheets LP et al.** Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology.* 2002; 171(1):3-59.
- Williams MK, Rundle A, Holmes D et al.** Changes in pest infestation levels, self-reported pesticide use, and permethrin exposure during pregnancy after the 2000-2001 U.S. Environmental Protection Agency restriction of organophosphates. *Environ. Health Perspect.* 2008; 116(12):1681-8.
- Whyatt RM, Garfinkel R, Hoepner LA et al.** Within- and between-home variability in indoor-air insecticide levels during pregnancy among an inner-city cohort from New York City. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115(3):383-9.
- Whyatt RM, Rauh V, Barr DB et al.** Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort. *Environ. Health Perspect.* 2004; 112(10):1125-32.
- Whyatt RM, Barr DB, Camann DE et al.** Contemporary-use pesticides in personal air samples during pregnancy and blood samples at delivery among urban minority mothers and newborns. *Environ. Health Perspect.* 2003; 111(5):749-56.
- Whyatt RM, Camann DE, Kinney PL et al.** Residential pesticide use during pregnancy among a cohort of urban minority women. *Environ. Health Perspect.* 2002; 110(5):507-14.
- Whyatt RM, Barr DB.** Measurement of organophosphate metabolites in postpartum meconium as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environ. Health Perspect.* 2001; 109(4):417-20.

## Publications non sélectionnées

- Adams RD, Lupton D, Good AM et al.** UK childhood exposures to pesticides 2004-2007: a TOXBASE toxicovigilance study. *Arch. Dis. Child.* 2009; 94(6):417-20.
- Le Royaume-Uni ne dispose pas d'un réel réseau de toxicovigilance; cet article relate les données des centres anti-poisons anglais concernant les appels pour intoxications aux pesticides d'enfants.*
- Ruder AM, Butler MA, Sanderson WT et al.** The NIOSH Retrospective Pesticide Reference Database. *J. Agric. Saf. Health.* 2009; 15(2):143-56.
- Construction d'une base référençant plus de 1000 produits pesticides utilisés aux États-Unis permettant de préciser les réponses aux questionnaires de participants à des études épidémiologiques.*
- Tolosana S, Rother HA, London L.** Child's play: exposure to household pesticide use among children in rural, urban and informal areas of South Africa. *S. Afr. Med. J.* 2009; 99(3):180-4.
- Étude intéressante sur les habitudes d'utilisation de pesticides dans des familles rurales et urbaines d'Afrique du Sud.*
- Tsatsakis AM, Tzatzarakis MN, Koutroulakis D et al.** Dialkyl phosphates in meconium as a biomarker of prenatal exposure to organophosphate pesticides: a study on pregnant women of rural areas in Crete, Greece. *Xenobiotica.* 2009; 39(5):364-73.
- Étude sur l'intérêt du méconium (validation analytique) pour évaluer l'exposition fœtale aux pesticides organophosphorés.*

## Lexique

- (1) CCCEH: Columbia Center for Children's Environmental Health.
- (2) CPF: chlorpyrifos.
- (3) TCP: trichloropyridinol (métabolite du chlorpyrifos).
- (4) Cis et trans DCCA: acide cis/trans 3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique (métabolite de la cyfluthrine, cyperméthrine et perméthrine).
- (5) PBA: acide 3-phénoxybenzoïque (métabolite de nombreux pyréthrinoïdes).
- (6) DBCa: acide 3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique (métabolite de la deltaméthrine).
- (7) FPBA: acide 4-fluoro-3-phénoxybenzoïque (métabolite de la cyfluthrine).
- (8) CDCA: acide chrysanthémum dicarboxylique (métabolite de nombreux pyréthrinoïdes).
- (9) CG-SM: chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse.
- (10) TCA: Acides cyclopropane-carboxyliques totaux (somme molaire de cis-DCCA + trans-DCCA + DBCA + CDCA).
- (11) NHANES: National Health And Nutrition Examination Survey.