

Biomarqueurs urinaires d'exposition aux pesticides des femmes enceintes de la cohorte Pélagie réalisée en Bretagne, France (2002-2006)

Cécile Chevrier¹ (cecile.chevrier@rennes.inserm.fr), Claire Petit¹, Gwendolina Limon², Christine Monfort¹, Gaël Durand², Sylvaine Cordier¹

1/ Inserm U625 ; GERHM, Université de Rennes I, IFR140, Rennes, France 2/ Idhesa Bretagne Océane, Plouzané, France

Résumé

Bien qu'essentiellement agricole, l'usage des pesticides est varié et les sources d'exposition de la population aux pesticides sont multiples. Les niveaux d'imprégnation de la population générale aux pesticides sont méconnus en France et dans la majorité des pays européens. La mesure de l'exposition par des biomarqueurs d'exposition a l'avantage d'intégrer toutes les voies possibles d'exposition. Compte-tenu de la sensibilité particulière des fœtus aux toxiques, évaluer l'exposition des femmes enceintes est une question majeure de santé publique.

La cohorte Pélagie a inclus près de 3 500 femmes enceintes en Bretagne entre 2002 et 2006. La collecte d'échantillons urinaires en début de grossesse et des dosages chimiques de pesticides pour 546 échantillons urinaires ont été réalisés. L'objectif était d'évaluer le niveau et l'étendue de l'imprégnation des femmes enceintes aux pesticides, en particulier aux herbicides de la famille des triazines, interdits d'usage en France depuis fin 2003 mais toujours présents dans l'environnement, et aux insecticides organophosphorés, d'usages agricoles et non agricoles.

Les résultats indiquent la présence de traces de pesticides dans la majorité des urines des femmes enceintes, certaines molécules étant des produits de dégradation persistants dans l'environnement de molécules-mères. Ces résidus de pesticides sont généralement multiples et leurs impacts, individuels ou conjoints, sur le fœtus et son développement sont encore incertains dans la littérature épidémiologique. Ils seront évalués prochainement dans la cohorte Pélagie.

Mots clés

Pesticide, exposition, marqueur urinaire, grossesse

Introduction

La majorité des pesticides est utilisée lors d'activités agricoles pour le traitement des cultures. De nombreux autres exemples d'usage de pesticides existent et sont communs : usage individuel d'entretien des jardins, allées ou potagers privés, usage dans les habitations contre les moustiques ou les fourmis, usage vétérinaire, anti-parasitaire et sur les animaux domestiques, usage industriel, usage par les collectivités pour l'entretien des jardins publics, des routes et des voies ferrées. Tous ces usages variés engendrent une contamination des sols, des eaux et de l'air par des molécules de pesticides, qui contaminent les plantes, les animaux et les hommes [1].

De nombreuses enquêtes font aujourd'hui état d'une contamination de nos environnements par des pesticides. L'Institut français de l'environnement (Ifen) a observé en 2006, dans les cours d'eau français, des résidus de pesticides pour 90 % des mille stations réparties sur l'ensemble du territoire, déclarant ainsi une qualité moyenne à mauvaise vis-à-vis des pesticides pour plus d'un tiers des sites mesurés [2]. Des traces de pesticides sont détectées pour la moitié des stations de mesure des eaux souterraines. Une fraction de la population (1,5 % en Bretagne, 5 % en France) a ainsi été exposée à une eau du robinet ayant fait l'objet d'un dépassement de la limite réglementaire de 0,1 µg/l en pesticides [3]. Les eaux de pluie sont localement et ponctuellement fortement contaminées par des pesticides [4]. Des pesticides sont régulièrement détectés dans l'atmosphère par des associations de surveillance de la qualité de l'air réparties dans diverses régions françaises [5,6]. Différentes enquêtes ont montré la présence de résidus de pesticides dans des logements français [7]. Enfin, une enquête européenne a montré récemment que près de la moitié des fruits, légumes et céréales disponibles dans l'Union européenne contient des résidus de pesticides [8]. Notre environnement quotidien, incluant l'alimentation et nos usages domestiques, nous expose ainsi à des résidus de pesticides par ingestion, inhalation ou par contact cutané. Cette exposition environnementale est généralement supposée de niveaux faibles, mais continue ou répétée, et les niveaux d'exposition aux pesticides de la population générale sont à nos jours mal connus en France et pour la majorité des pays européens. La population bretonne, en raison d'une forte activité agricole dans la région, est particulièrement concernée par l'exposition aux pesticides.

La cohorte Pélagie a été mise en place dans cette région pour étudier l'impact de contaminants de l'environnement en Bretagne sur le développement intra-utérin et celui de l'enfant. Grâce à la collecte d'échantillons urinaires de femmes enceintes en début de grossesse entre 2002 et 2006, la cohorte Pélagie nous permet d'utiliser des biomarqueurs d'exposition aux pesticides, qui reflètent la dose interne ou l'imprégnation biologique et qui ont l'avantage d'intégrer toutes les voies possibles d'exposition.

Nous nous sommes en particulier intéressés aux herbicides de la famille des triazines et aux insecticides organophosphorés, potentiellement toxiques pour la reproduction et le neurodéveloppement. L'atrazine et la simazine, de la classe des triazines, sont des herbicides appliqués en culture de maïs dont les usages sont interdits en France depuis fin 2003. Leurs produits de dégradation se déplacent dans les eaux et sont encore très présents dans l'environnement principalement sous leurs formes déalkylées (eau) et hydroxylées (sols et plantes), variant de quelques mois à quelques années après l'usage de l'herbicide. Dans le monde, l'atrazine continue d'être un des herbicides les plus utilisés. Des effets embryotoxiques et embryoléthaux, ainsi que des perturbations des systèmes endocriniens et immunitaires ont été rapportés chez l'animal suite à une exposition prénatale à l'atrazine [9]. Les insecticides organophosphorés ont largement remplacé les pesticides organochlorés dans de nombreuses cultures et sont très présents dans les produits non agricoles, comme ceux utilisés à domicile et sur les animaux. Peu d'études animales ont observé des effets tératogènes suite à une exposition prénatale à des insecticides organophosphorés ; en revanche, des inquiétudes sont formulées suite à l'observation d'effets neurotoxiques pour des niveaux d'exposition modérés voire faibles [10,11].

L'objectif de cet article est de décrire les niveaux d'exposition à divers pesticides mesurés dans les urines des femmes de la cohorte Pélagie. Ces résultats ont été communiqués lors de la Conférence européenne sur la biosurveillance humaine, organisée en novembre 2008 à Paris¹.

¹ http://www.invs.sante.fr/agenda/biosurveillance_2008/programme_en.htm

Méthodes

L'étude Pélagie

L'étude épidémiologique Pélagie est une étude de cohorte ayant inclus près de 3 500 femmes au début de leur grossesse et réalisant un suivi des nouveau-nés pendant plusieurs années.

Les femmes enceintes étaient recrutées lors des consultations médicales au cours du premier trimestre de la grossesse (avant 19 semaines d'aménorrhée), pendant une période de plus de trois ans (septembre 2002 - février 2006) dans les départements d'Ille-et-Vilaine, du Finistère et des Côtes-d'Armor. Chaque médecin participant informait la consultante des objectifs et des modalités de l'étude et lui demandait sa participation. Lors de cette première visite, un questionnaire était remis à la femme, et il lui était demandé de le remplir à son domicile et de le retourner directement à l'Inserm U625. Elle retournait également un flacon d'urines du matin (urines les plus concentrées et les plus susceptibles d'accumuler les expositions récentes pour les pesticides non persistants dosés dans l'étude [12]) dans l'emballage pré-affranchi qui lui était fourni. Des échantillons urinaires de début de grossesse ont finalement été collectés pour près de 95 % des femmes participant à l'étude Pélagie. Au moment de la naissance, divers prélèvements étaient effectués : un échantillon de sang du cordon ombilical, une mèche de cheveux de la mère et un fragment de placenta. Les informations sur le déroulement de la grossesse et de l'accouchement étaient recueillies par les sages-femmes ; l'état de santé de l'enfant à la naissance était évalué par le pédiatre de maternité. Les prélèvements biologiques étaient stockés et congelés, à -20 °C pour les urines.

Dosages chimiques dans les urines

Les dosages chimiques de pesticides dans les prélèvements d'urines ont été réalisés selon une stratégie cas-cohorte, incluant un échantillon de 569 grossesses (18 % de la cohorte ; sans hypertension artérielle maternelle et ayant abouti à une naissance vivante et unique) tiré au sort dans la cohorte et appelé sous-cohorte [13]. Un total de 52 molécules a été dosé dans les urines, dont 12 appartenant à la classe des triazines, 32 à la classe des organophosphorés, 6 à la classe des amides et 2 à la classe des carbamates.

Les analyses chimiques étaient réalisées par l'Institut Idhesa (Plouzané, Finistère) à partir d'un volume maximal de 10 ml d'urine en utilisant la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse triple quadrupôle (LC/MSMS) après extraction liquide-solide. Les pesticides présents dans les urines étaient extraits à l'aide d'un système d'extraction liquide-solide en ligne de type Symbiosis Prospekt II en utilisant une cartouche Hysphere C18 HD et élués avec la phase mobile utilisée pour la chromatographie. La séparation était obtenue par chromatographie en phase liquide (*Alliance Waters, Separations Module 2690*) en utilisant une colonne Synergi Fusion RP C18, (250 X 2 mm, 4 µm) et un gradient d'élution : acétonitrile/acide formique 0,01 % et formiate d'ammonium 5mM/acide formique 0,01 %. La détection était réalisée par LC/MSMS (Quattro Ultima, Micromass/Waters). Les étalons de référence étaient obtenus auprès de Riedel-de-Haën Fine Chemicals et Dr. Ehrenstorfer GmbH. Pour les contrôles d'extraction et de détection, trois étalons internes ont été utilisés : la simazine deutériée 10, le diuron deutérié 6 et le DMButylphosphate. Compte tenu du nombre de molécules analysées simultanément, cette méthode est innovante et, grâce à la confirmation par LC/MSMS (deux transitions minimum) et l'utilisation de trois étalons internes, permet ainsi d'améliorer les limites de détection.

Les limites de détection et de quantification (LQ) pour chaque molécule atteinte par le laboratoire sont présentées dans le tableau 1. Les LQ varient de 0,001 à 1,7 µg/l. La linéarité de gamme de concentration a été réalisée entre 0,010 et 10 µg/l pour les pesticides avec les plus basses limites de détection et à partir de la limite de détection pour les autres. Les rendements d'analyses sont de 100 % +/- 20 %, avec des coefficients de variation allant de 0,1 à 13,9 %.

Analyse statistique

Les dosages chimiques sont exprimés en µg/l. L'ensemble des valeurs non quantifiées pour chaque composé a été remplacé par la limite de détection divisée par la racine carrée de deux. Les concentrations molaires, exprimées en nmol/l, ont été obtenues en divisant les dosages chimiques par la masse molaire. Pour construire des biomarqueurs d'exposition cumulant plusieurs molécules, les concentrations molaires étaient sommées. Les concentrations ajustées sur le niveau de créatinine urinaire, indice de la dilution des urines, étaient calculées. Les moyennes géométriques étaient calculées afin de réduire l'influence des valeurs extrêmes. Le logiciel SAS® a été utilisé pour tous les calculs (SAS/STAT version 9.1, SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).

Résultats

Parmi les 569 femmes de la sous-cohorte de l'étude Pélagie, 23 n'avaient pas transmis d'échantillon urinaire ou trop tardivement selon les critères d'inclusion de l'étude. Les résultats de dosages urinaires de pesticides sont ainsi disponibles pour 546 (96 %) femmes de la sous-cohorte (tableau 2).

Tableau 1 Liste des composés de triazines et d'insecticides organophosphorés (OP) par ordre décroissant du nombre de valeurs quantifiées en µg/l parmi les 546 prélèvements d'urines de femmes enceintes de la sous-cohorte de l'étude Pélagie, Bretagne, France, 2002-2006

Famille	Métabolite	Limite de détection (µg/l)	Limite de quantification (LQ : µg/l)	n (>LQ)	%(>LQ)
OP ^a	DMP	0,058	0,20	458	83,88
OP	Diazinon	0,0002	0,001	206	37,73
OP	DEDTP	0,005	0,02	195	35,71
OP	Ethion	0,003	0,009	168	30,77
OP	DMP	0,32	1	154	28,21
OP	Chlorpyrifos-oxon	0	0,002	139	25,46
OP	Phoxim	0,026	0,09	137	25,09
OP	DMPT	0,127	0,45	110	20,15
OP	Paraoxon-méthyl	0,0225	0,75	106	19,41
OP	DEP	0,366	1,25	96	17,58
Triazine	Atrazine désipropoyl-2-hydroxy	0,043	0,15	88	16,12
Triazine	Atrazine déséthyl désisopropyl-2-hydroxy	0,067	0,25	77	14,10
OP	4-nitrophénol	0,062	0,21	75	13,74
OP	Phorate	0,003	0,01	68	12,45
OP	Chlorpyrifos	0,010	0,035	66	12,09
OP	Chlormephos	0,017	0,06	62	11,36
Triazine	Atrazine déséthyl	0,001	0,003	58	10,62
OP	4-nitrophenyl (sulfate) potassium salt	0,022	0,08	58	10,62
Triazine	Atrazine-2-Hydroxy	0,005	0,02	56	10,26
OP	Paraoxon-éthyl	0,015	0,05	56	10,26
OP	TCPY :3,5,6-trichloro-2-pyridinol	0,042	0,15	52	9,52
OP	DETP	0,508	1,70	47	8,61
Triazine	Simazine 2-hydroxy	0,006	0,02	46	8,42
OP	Terbufos-sulfoxyde	0,002	0,008	43	7,88
Triazine	Simazine mercapturate	0,014	0,06	42	7,69
Triazine	Atrazine déséthyl désisopropyl	0,135	0,50	39	7,14
OP	Terbufos-oxon-sulfone	0,014	0,045	36	6,59
OP	Parathion-éthyl	0,362	1,50	36	6,59
OP	Parathion-méthyl	0,07	0,25	34	6,23
OP	Malathion	0,002	0,006	33	6,04
OP	chlorpyrifos méthyl-oxon	0,015	0,05	31	5,68
OP	Fenthion	0,014	0,05	30	5,49
Triazine	Atrazine déséthyl 2-hydroxy	0,094	0,315	27	4,95
OP	Terbufos-oxon	0,003	0,009	27	4,95
OP	Terbufos-sulfone	0,003	0,01	27	4,95
Triazine	Atrazine désipropoyl	0,262	0,90	24	4,40
Triazine	Atrazine mercapturate	0,005	0,02	22	4,03
OP	Chlorpyrifos-méthyl	0,043	0,15	17	3,11
OP	Terbufos-oxon-sulfoxyde	0,008	0,03	17	3,11
OP	Dichlorvos	0,268	0,90	14	2,56
OP	Terbufos	0,018	0,06	14	2,56
Triazine	Atrazine	0,01	0,05	9	1,65
OP	Ométhoate	0,033	0,15	9	1,65
Triazine	Simazine	0,054	0,20	5	0,92

^a Organophosphorés

En gras : substance-mère

n(>LQ) : nombre de valeurs quantifiées ; %(>LQ) : pourcentage de valeurs quantifiées

Tableau 2 Description de la population des 546 femmes enceintes* de la sous-cohorte de l'étude Pélagie, Bretagne, France, 2002-2006

Année d'inclusion		
2002	n= 77	14,10 %
2003	n=197	36,10 %
2004	n=198	36,30 %
2005-6	n= 74	13,60 %
Département de résidence		
Ille-et-Vilaine	n=342	62,60 %
Côtes-d'Armor	n=147	26,90 %
Finistère	n= 33	6,00 %
Autres départements ou manquant	n= 24	4,40 %
Zone d'habitation		
Commune < 20 000 habitants	n=443	81,10 %
Commune > 20 000 habitants	n=103	18,90 %
Âge de la femme enceinte à l'inclusion		
< 25 ans	n= 67	12,30 %
25 - 29 ans	n=212	38,90 %
30 - 34 ans	n=191	35,10 %
35 ans	n= 75	13,80 %
Âge médian (min.-max.)	29,9 ans	(19,5-44) ans
IMC médian (min.-max.)	21,3 kg/m ²	(15-44) kg/m ²
Parité		
1	n=245	45,00 %
2	n=197	36,10 %
3	n=103	18,90 %
Niveau d'éducation de la mère		
Niveau inférieur au bac	n=102	18,70 %
Niveau bac	n=105	19,30 %
Niveau supérieur au bac	n=338	62,00 %
Statut tabagique de la mère		
Non fumeuse	n=390	72,40 %
Ex-fumeuse pendant le début de grossesse avant l'inclusion	n= 62	11,50 %
Fumeuse à l'inclusion	n= 87	16,10 %
Consommation maternelle d'alcool en début de grossesse		
Jamais ou occasionnellement	n=459	85,30 %
1 fois par jour	n= 73	13,60 %
> 1 fois par jour	n= 6	1,10 %
Saison du prélèvement urinaire		
Printemps	n=144	26,40 %
Été	n=115	21,10 %
Automne	n=155	28,40 %
Hiver	n=131	24,00 %
Âge gestationnel médian au prélèvement urinaire (min.-max.)	10,3 semaines de gestation	(2-18) semaines de gestation
Niveau médian de créatinine (min.-max.)	1 g/l	(0,19-3,51) g/l

* Femmes de la sous-cohorte pour lesquelles un échantillon urinaire était collecté et avec un niveau de créatinine supérieur à 100 mg/L (n=546 parmi 569 ; 96 %)
n : effectif ; % : pourcentage ; IMC : indice de masse corporelle

La majorité de ces femmes a été incluse dans le département d'Ille-et-Vilaine. Près des trois quarts sont âgées de 25 à 34 ans ; 45 % sont primipares. Plus de 60 % des participantes rapportent avoir étudié pendant au moins deux ans après le baccalauréat. Environ 27 % des femmes déclarent fumer en début de grossesse. Une consommation d'alcool en début de grossesse est rapportée par 15 % d'entre elles avec moins d'un verre par jour, et pour 1 % des femmes cette consommation

est de plus d'un verre par jour. Les prélèvements urinaires ont eu lieu après 11 semaines de gestation pour la moitié des femmes. Leurs fréquences varient légèrement en fonction des saisons pour lesquelles les usages agricoles de pesticides peuvent différer : 28 % en automne, 26 % au printemps. Le niveau de créatinine varie entre 185 et 3 511 mg/l (médiane=1 004 mg/l).

Les 44 molécules d'intérêt (triazines et organophosphorés) ont été quantifiées dans 1 à 84 % des 546 échantillons urinaires de la sous-cohorte (tableau 1). Les 10 molécules les plus quantifiées appartiennent à la famille des insecticides organophosphorés, leurs limites de quantification n'étant pas nécessairement les plus faibles. Seuls 1,6 % des échantillons urinaires de la sous-cohorte n'ont pas de traces des 52 molécules dosées (i.e. aucune molécule quantifiée). La majorité des échantillons urinaires (54 %) contient au moins 8 molécules quantifiées, 10 % des échantillons contiennent au moins 13 molécules, allant jusqu'à 28 molécules quantifiées pour un échantillon urinaire (figure 1).

Les descriptions des niveaux de traces urinaires de triazines et d'insecticides organophosphorés pour les 546 femmes enceintes de la sous-cohorte Pélagie sont présentées, avec et sans ajustement sur le niveau de créatinine dans les tableaux 3 et 4. Des traces d'exposition à l'atrazine et à la simazine, mesurée pour chacune par la substance-mère et son métabolite mercapturique, sont observées pour une minorité de femmes (5 et 8 % respectivement ; tableau 3). Leurs métabolites déalkylés et hydroxylés sont en revanche observés dans 20 et 40 % des échantillons urinaires. Les niveaux urinaires moyens sont les plus faibles pour l'atrazine et son métabolite mercapturique, puis pour la simazine et son métabolite mercapturique, pouvant atteindre au moins 0,1 µg/L de simazine mercapturate pour 5 % de la population étudiée ; les niveaux urinaires moyens de métabolites déalkylés et hydroxylés sont plus élevés et comparables entre eux (respectivement 2,2 nmol/l et 2,0 nmol/l).

Les composés d'insecticides organophosphorés pour lesquels un niveau d'au moins 0,1 µg/l d'urine a été quantifié dans 5 % ou plus des échantillons urinaires sont présentés dans le tableau 4. Il s'agit du chlormephos (cultures de maïs), du chlorpyrifos (diverses cultures, produits domestiques contre les fourmis, blattes et autres insectes), du TCPy, métabolite du chlorpyrifos, de l'éthion (cultures de céréales et légumes), du parathion-éthyl (diverses cultures, usage interdit depuis fin 2002), du parathion-méthyl (diverses cultures, usage interdit depuis fin 2003), de métabolites des parathions (oxon et autres : paraoxon-éthyl, paraoxon-méthyl, 4-nitrophénol, 4-nitrophényl potassium salt), du phorate (cultures de maïs, usage interdit depuis fin 2003) et du phoxim (diverses cultures, produits contre les fourmis). Le tableau 4 montre que les métabolites dialkylphosphates (DAP), communs à de nombreux insecticides organophosphorés, ont été retrouvés dans plus de 90 % des échantillons urinaires. La majorité de ces échantillons contient à la fois des métabolites de la classe éthyl (DE) et de la classe méthyl (DM) ; la plus faible fréquence de quantification parmi les six métabolites DAP est celle du DETP (9 %). Les plus forts niveaux moyens parmi les six métabolites DAP sont observés pour le DMP (12 nmol/l ; métabolite commun

Tableau 3 Distribution des niveaux de traces urinaires d'herbicides de la famille des triazines parmi les 546 femmes enceintes de la sous-cohorte de l'étude Pélagie, Bretagne, France, 2002-2006

	% (>LQ)	Concentration urinaire							Concentration urinaire ajustée sur la créatinine						
		médiane	p75	p90	p95	p99	Max	Moy. Géom.	médiane	p75	p90	p95	p99	Max	Moy. Géom.
		µg/l							µg/g creat						
Atrazine	2 %	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,08	0,52	0,007	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,07	1,29	0,007
Atrazine mercapturate	4 %	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,08	0,68	0,004	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,09	1,67	0,004
Simazine	1 %	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,04	1,83	0,040	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,21	2,50	0,040
Simazine mercapturate	8 %	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,30	1,60	0,010	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,20	2,60	0,010
		nmol/l							nmol/g creat						
Atrazine ou atrazine mercapturate	5 %	<LQ	<LQ	<LQ	0,10	0,70	4,40	0,05	<LQ	<LQ	<LQ	0,10	1	10,90	0,05
Simazine ou simazine mercapturate	8 %	<LQ	<LQ	<LQ	1,30	7,80	14,20	0,26	<LQ	<LQ	<LQ	1,20	9,80	25,60	0,27
Métabolites déalkylés des triazines	20 %	<LQ	<LQ	5,90	11,80	33,80	76,50	2,20	<LQ	<LQ	5,70	12,60	38,60	98,70	2,30
Métabolites hydroxylés des triazines	40 %	<LQ	3,80	10,70	19,50	46,80	66,90	2,00	<LQ	3,50	12,40	21,70	67,90	138,20	2,00

En gras : substance-mère

"LQ : limite de quantification ; %(>LQ) : pourcentage de valeurs quantifiées ; <LQ : valeur non quantifiée ; pXX : XXème percentile ; max : maximum ; Moy. Géom. : moyenne géométrique

Figure 1 Nombre de molécules quantifiées dans les urines parmi les 52 molécules analysées, étude Pélagie, Bretagne, France, 2002-2006

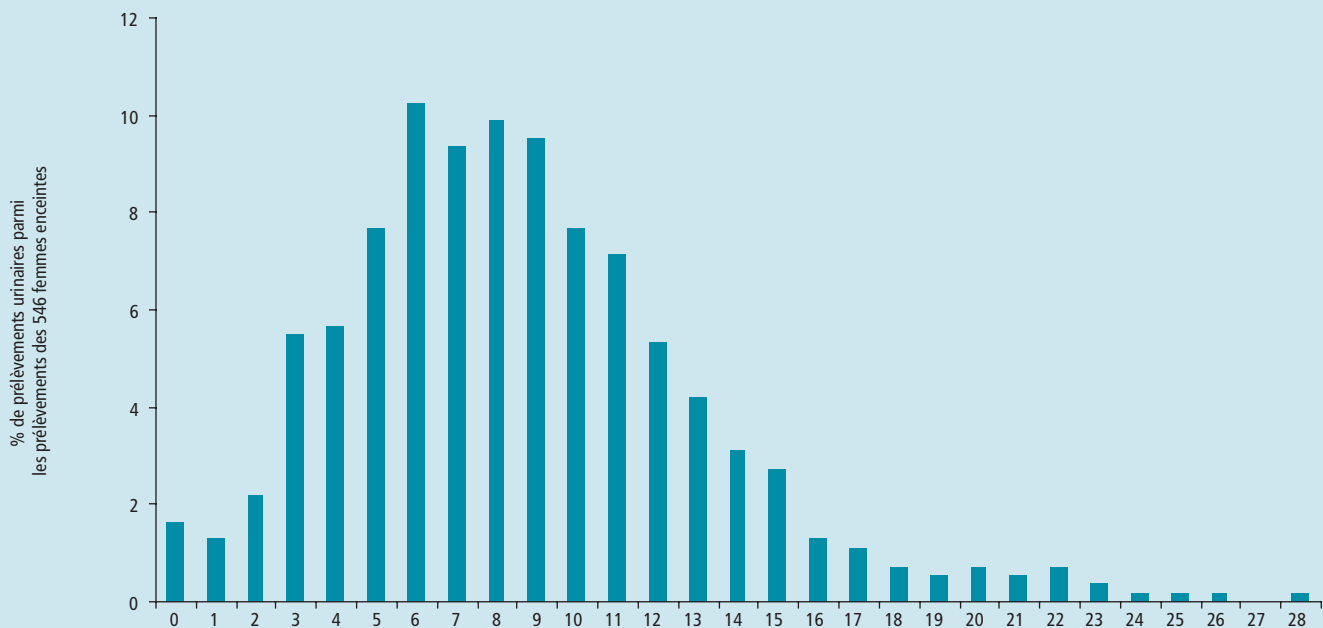


Tableau 4 Distribution des niveaux de traces urinaires d'insecticides organophosphorés (pour les molécules ayant un 95^e percentile supérieures à 0,1 µg/l et pour les métabolites dialkylphosphates, DAP) parmi les 546 femmes enceintes de la sous-cohorte de l'étude Pélagie, Bretagne, France, 2002-2006

	% (>LQ)	Concentration urinaire							Concentration urinaire ajustée sur la créatinine						
		médiane	p75	p90	p95	p99	max	Moy. Géom.	médiane	p75	p90	p95	p99	max	Moy. Géom.
		µg/l							µg/g creat						
Chlorpyrifos	11	<LQ	<LQ	0,09	0,5	2,1	7,1	0,02	<LQ	<LQ	0,09	0,40	2,30	16,70	0,02
TCPY : 3,5,6-trichloro-2-pyridinol	12	<LQ	<LQ	0,04	0,1	0,7	10	0,01	<LQ	<LQ	0,04	0,2	0,9	8,4	0,01
Ethion	10	<LQ	<LQ	0,03	0,4	2,8	5,4	0,04	<LQ	<LQ	0,1	0,4	2,9	7,7	0,04
Parathion-éthyl	31	<LQ	0,02	0,08	0,15	1,1	3,1	0,006	<LQ	0,02	0,08	0,2	0,9	3,2	0,006
Paraoxon-éthyl	7	<LQ	<LQ	<LQ	2	8,7	14,1	0,3	<LQ	<LQ	<LQ	2,3	9,4	28	0,3
Parathion-méthyl	10	<LQ	<LQ	0,05	0,16	1	2,6	0,01	<LQ	<LQ	0,05	0,14	0,99	2,28	0,01
Paraoxon-méthyl	6	<LQ	<LQ	<LQ	0,4	3	14,4	0,06	<LQ	<LQ	<LQ	0,3	3,6	19	0,06
Métabolites communs des parathionsce :	19	<LQ	<LQ	1,30	1,9	5,8	27	0,25	<LQ	0,3	1,2	2,5	7,5	65,9	0,25
4-nitrophénol	14	<LQ	<LQ	0,30	0,6	2,2	3,9	0,06	<LQ	<LQ	0,3	0,8	2,4	11,3	0,06
4-nitrophenyl potassium salt	11	<LQ	<LQ	0,10	1,6	6,7	34,1	0,02	<LQ	<LQ	0,1	1,2	6,9	35,5	0,02
Phorate	12	<LQ	<LQ	0,02	0,17	1,9	3,8	0,004	<LQ	<LQ	0,02	0,17	2,6	5,2	0,004
Phoxim	25	<LQ	0,09	1,60	2,4	5,9	11	0,05	<LQ	0,1	1,7	3	8	16	0,05
Métabolites dialkylphosphates :															
DEP	18	<LQ	<LQ	2,70	4,4	11,2	69,1	0,4	<LQ	<LQ	2,4	5,7	11,5	82,4	0,4
DETP	9	<LQ	<LQ	<LQ	2,9	11,5	34,4	0,4	<LQ	<LQ	<LQ	3,1	13,8	33,2	0,5
DEDTP	36	<LQ	0,10	1,60	3,5	13,5	37,2	0,02	<LQ	0,1	1,6	3,8	18,4	35,1	0,02
DMP	84	2,3	6,30	11,10	15,8	32	112,9	1,5	2,3	6,3	11,8	16,5	45,7	134,4	1,5
DMTP	28	<LQ	1,30	5,30	9,4	37,6	192,2	0,5	<LQ	1,3	5,5	12	30	115,4	0,5
DMDTP	20	<LQ	<LQ	1,70	4	14	71,4	0,2	<LQ	<LQ	1,6	4,9	14,7	217	0,2
		nmol/l							nmol/g creat						
Métabolites dialkylphosphates :															
DEP	18	<LQ	<LQ	17,60	28,9	73	451,4	2,6	<LQ	3,2	15,9	36,9	75,3	538	2,7
DETP	9	<LQ	<LQ	<LQ	13,7	55	164,6	2,1	<LQ	<LQ	<LQ	14,6	65,7	158,7	2,2
DEDTP	36	<LQ	0,50	6,90	15,7	60,2	166	0,09	<LQ	0,5	7,3	16,8	82	156,3	0,09
Total DE (DEP+DETP+DEDTP)	50	3,5	13,40	35,20	60,1	132,4	453,9	6,9	4,9	13,5	39,1	56,5	159,5	541,7	7
DMP	84	18,5	49,90	88,00	125,1	253,9	895,6	12	18	49,9	93,8	131	362,7	1065,9	3,6
DMTP	28	<LQ	8,10	32,60	57,2	229,4	1171,2	3,1	<LQ	7,7	33,3	73,1	183	703,4	3,2
DMDTP	20	<LQ	<LQ	10,70	25	88,5	451,4	1,1	<LQ	<LQ	9,9	31,1	92,9	1372	1,1
Total DM (DMP+DMTP+DMDTP)	89	31	70,80	128,3	183,2	539,6	1482,8	27	31	73,4	141,4	201,4	697,9	1456,2	27,3
Total DAP (DE+DM)	91	42,8	88,60	160,9	221,2	568,3	1487,2	40,2	41,9	94,8	173	240,2	700,9	1583,7	40,7

En gras : substance-mère

LQ : limite de quantification ; %(>LQ) : pourcentage de valeurs quantifiées ; <LQ : valeur non quantifiée ; pXX : XXème percentile ; max : maximum ; Moy. Géom. : moyenne géométrique
 DEP : diéthylphosphate ; DETP : diéthylthiophosphate ; DEDTP : diéthylidithiophosphate ; DMP : diméthylphosphate ; DMTP : diméthylthiophosphate ; DMDTP : diméthylidithiophosphate

et spécifique aux insecticides organophosphorés) et le DMTP (3,1 nmol/L ; métabolite commun mais non spécifique aux insecticides organophosphorés). Finalement, les traces urinaires de composés triazines sont moins fréquentes et de niveaux inférieurs à celles des insecticides organophosphorés et des métabolites DAP.

Les tableaux 3 et 4 présentent des concentrations médianes et moyennes dans les urines similaires avec et sans ajustement sur le niveau de créatinine.

Discussion

Les résultats présentés dans cet article montrent des traces de pesticides dans la majorité des prélèvements urinaires des femmes enceintes de la sous-cohorte Pélagie. Une étude réalisée sur une vingtaine d'adultes résidant en Île-de-France montrait des niveaux médians des métabolites urinaires DAP supérieurs à ceux observés dans la cohorte Pélagie (7 nmol/g creat (DE) et 221 nmol/g creat (DM) en comparaison à 5 nmol/g creat (DE) et 31 nmol/g creat (DM) pour l'étude Pélagie) [15,7]. La cohorte Pélagie est la première étude en France évaluant les niveaux d'imprégnation de femmes enceintes de la population générale à de multiples pesticides. En comparaison avec une étude réalisée sur 100 femmes enceintes néerlandaises, seulement 5 % de la sous-cohorte Pélagie ont des niveaux de métabolites urinaires DAP et TCPy supérieurs aux niveaux médians de l'étude néerlandaise [14]. Les niveaux médians de DAP urinaires de femmes enceintes rapportés par des études américaines à l'échelle nationale, à New York ou en région agricole de la Californie, sont aussi plus élevés que ceux observés dans la sous-cohorte Pélagie (jusqu'à +270 % pour la Californie) [15-19]. À notre connaissance, aucune étude n'a mesuré les niveaux d'atrazine et ses métabolites dans les urines de femmes enceintes. Une étude américaine a rapporté des niveaux urinaires d'atrazine mercapturate variant de 0,013 à 2,8 µg/l et de 0,003 à 2,2 µg/l respectivement chez 24 mères et 51 enfants de familles non agricultrices dans l'Iowa [20]. Les résultats de la cohorte Pélagie montrent une présence et les niveaux urinaires des métabolites des triazines supérieurs à ceux des molécules-mères, reflétant ainsi la persistance environnementale de ces produits de dégradation.

L'interprétation des résultats doit être cependant réalisée avec précaution. L'unicité du prélèvement urinaire dans la cohorte Pélagie et les variabilités analytiques inter-laboratoires peuvent contribuer à expliquer une part des différences observées dans les niveaux urinaires entre les études. Aussi, l'âge gestationnel du prélèvement urinaire varie et pourrait influencer les concentrations urinaires de métabolites ainsi que le niveau de créatinine. Enfin, il faut noter que l'étude Pélagie n'est pas représentative de la population des femmes enceintes bretonnes. La caractéristique la plus remarquable de la population de la cohorte Pélagie est un niveau d'études élevé (60 % avec un niveau d'études supérieures contre 44 % dans l'Enquête nationale périnatale 2003 [21]). En conclusion, ces résultats de l'étude Pélagie offrent un aperçu des niveaux urinaires d'exposition aux herbicides de la famille des triazines, aujourd'hui interdits d'usage en France, et aux insecticides organophosphorés, d'usages agricoles et non agricoles, chez des femmes enceintes de la population française.

Diverses hypothèses ont été émises au cours des dernières années concernant l'impact possible d'expositions aux pesticides sur le développement intra-utérin. Des études épidémiologiques ont suggéré une augmentation des risques de fausses couches, de malformations congénitales et de naissances mort-nées avec l'utilisation professionnelle de pesticides par les parents, impliquant des niveaux d'exposition plus élevés que les expositions environnementales [22]. Les études s'intéressant à l'impact d'une exposition environnementale aux pesticides sont plus récentes et leurs résultats sont variables [23]. Trois cohortes américaines récentes utilisant des biomarqueurs d'exposition aux insecticides organophosphorés présentent cependant des conclusions concordantes lorsqu'une susceptibilité génétique est prise en compte et suggèrent un rôle néfaste d'une exposition environnementale aux insecticides organophosphorés sur la croissance intra-utérine [16,17,19,24,25]. Ces rela-

tions entre les niveaux de biomarqueurs d'exposition aux pesticides et les paramètres du développement intra-utérin sont en cours d'analyse dans l'étude Pélagie pour confirmer ou infirmer ces résultats.

Remerciements

Les auteurs remercient tout particulièrement les gynécologues, obstétriciens, échographistes, sages-femmes, pédiatres et l'ensemble des participantes de l'étude. Les auteurs remercient également les associations médicales (ADEPAFIN, CGMO) pour leur collaboration, Véronique Villalon, Ronan Garlandezec et Florence Rouget pour leur investissement dans cette étude. La cohorte Pélagie et les dosages chimiques ont été soutenus et financés par l'Institut de veille sanitaire, l'Inserm, l'Agence nationale de la recherche et la Drass de Bretagne.

Références

- [1] Observatoire des résidus de pesticides. Les pesticides/Contaminations et expositions <http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/index.php?pageid=259>
- [2] IFEN. Observation et statistiques de l'environnement. Les pesticides dans les eaux, 2006. <http://www.ifen.fr/donnees-essentielles/eau/les-pesticides-dans-les-eaux.html>
- [3] DIREN Bretagne, Direction Régionale de l'Environnement. L'eau en Bretagne - Bilan 2006. http://www.bretagne.ecologie.gouv.fr/Eau/Tableaux_Bord/Tab-Bord_2006/index.htm
- [4] Expertise scientifique collective INRA et CEMAGREF. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux, 2005. http://www.inra.fr/l_institut/expertise/expertises_realisees/pesticides_agriculture_et_environnement
- [5] Atmo Poitou-Charentes. <http://www.atmo-poitou-charentes.org/Publications-sur-les-pesticides.html>
- [6] Airparif, surveillance de la qualité de l'air en Ile-de-France. Évaluation des concentrations en pesticides dans l'air francilien : campagne exploratoire, juin 2007. http://www.airparif.asso.fr/airparif/pdf/pesticides_rapport.pdf
- [7] Bouvier G. Contribution à l'évaluation de l'exposition de la population francilienne aux pesticides. Thèse de doctorat de l'Université Paris 5, 2005.
- [8] European Commission. Monitoring of Pesticide Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway, Iceland and Liechtenstein, 2006 Report. Commission staff working document (November 2008). http://ec.europa.eu/food/fvo/specialreports/pesticide_residues/report_2006_en.pdf
- [9] ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry Toxicological Profile for Atrazine, September 2003. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp153.html>
- [10] Schardein JL. Chemical exposure in pregnancy. In: Chemically induced birth defects 2nd edition, revised and expanded. New York: Marcel Dekker, 1993;pp. 659-74.
- [11] Bjørling-Poulsen M, Andersen HR, Grandjean P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environ Health*. 2008;7:50.
- [12] Barr DB, Wang RY, Needham LL. Biological monitoring of exposure to environmental chemicals throughout the life stages: requirements and issues for consideration for the National Children's Study. *Environ Health Perspect*. 2005;113(8):1083-91.
- [13] Ahrens W, Pigeot I, eds. Handbook of Epidemiology. Chapter 1.7: Modern Epidemiologic Study Designs. Springer, 2004.
- [14] Ye X, Pierik FH, Hauser R, Duty S, Angerer J, Park MM, et al. Urinary metabolite concentrations of organophosphorous pesticides, bisphenol A, and phthalates among pregnant women in Rotterdam, the Netherlands: the Generation R study. *Environ Res*. 2008;108(2):260-7.
- [15] Centers for Disease Control and Prevention, Department of Health and Human Services. Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Published In: National Center for Environmental Health NCEH Pub. No. 05-0570. July 2005.
- [16] Berkowitz GS, Wetmur JG, Birman-Deych E, Obel J, Lapinski RH, Godbold JH, et al. In utero pesticide exposure, maternal paraoxonase activity, and head circumference. *Environ Health Perspect*. 2004;112(3):388-91.
- [17] Eskenazi B, Harley K, Bradman A, Weltzien E, Jewell NP, Barr DB, et al. Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. *Environ Health Perspect*. 2004;112(10):1116-24.
- [18] Bradman A, Eskenazi B, Barr DB, Bravo R, Castorina R, Chevrier J, et al. Organophosphate urinary metabolite levels during pregnancy and after delivery in women living in an agricultural community. *Environ Health Perspect*. 2005;113(12):1802-7.
- [19] Wolff MS, Engel S, Berkowitz G, Teitelbaum S, Siskind J, Barr DB, Wetmur J. Prenatal pesticide and PCB exposures and birth outcomes. *Pediatr Res*. 2007;61(2):243-50.
- [20] Curwin BD, Hein MJ, Sanderson WT, Striley C, Heederik D, Kromhout H, et al. Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in Iowa. *Ann Occup Hyg*. 2007;51(1):53-65.
- [21] Blondel B, Supernant K, Du Mazaubrun C, Bréart G. Enquête nationale périnatale 2003. Situation en 2003 et évolution depuis 1998. Paris : Inserm, 2005. <http://www.sante.gouv.fr/html/dossiers/perinat03/enquete.pdf>
- [22] Hanke W, Jurewicz J. The risk of adverse reproductive and developmental disorders due to occupational pesticide exposure: an overview of current epidemiological evidence. *Int J Occup Med Environ Health*. 2004;17(2):223-43.
- [23] Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, Bérubé A, Yang Q, Liu S, et al. Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2008;11(5-6):373-517.
- [24] Whyatt RM, Rauh V, Barr DB, Camann DE, Andrews HF, Garfinkel R, et al. Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort. *Environ Health Perspect*. 2004;112(10):1125-32.
- [25] Harley KG, Huen K, Holland NT, Bradman A, Barr DB, Eskenazi B. Effects of Organophosphorus Pesticide Exposure on Birth Outcome Among Pregnant Women with Differing PON1 Status. *Epidemiology*. ISEE 2008 Conference Abstracts Supplement. 19(6) Supplement:S345-S346, November 2008.