



HAL
open science

Évaluation des effets sur le neurodéveloppement de l'exposition prénatale et postnatale aux produits phytopharmaceutiques. Présentation du projet **NEUROPHYTO**

Florence Zeman, Elisa Thepaut, Karine Audouze, Remi Beranger, Michele Bisson, Cecile Chevrier, Thibaut Coustillet, Linda Macheka, Enrico Mombelli, Cleo Tebby, et al.

► To cite this version:

Florence Zeman, Elisa Thepaut, Karine Audouze, Remi Beranger, Michele Bisson, et al.. Évaluation des effets sur le neurodéveloppement de l'exposition prénatale et postnatale aux produits phytopharmaceutiques. Présentation du projet NEUROPHYTO. *Environnement, Risques & Santé*, 2023, 22 (4), pp.305-311. 10.1684/ers.2023.1744 . ineris-04278064

HAL Id: ineris-04278064

<https://ineris.hal.science/ineris-04278064>

Submitted on 9 Nov 2023

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.

**EVALUATION DES EFFETS SUR LE NEURODEVELOPPEMENT DE L'EXPOSITION PRENATALE ET
POSTNATALE AUX PRODUITS PHYTOPHARMACEUTIQUES : PRESENTATION DU PROJET**

NEUROPHYTO

Zeman, F., A.^{1,2}, Thépaut, E.^{1,2}, Audouze, K.³, Beranger, R.⁴, Bisson, M.⁵, Chevrier, C.⁴, Coustillet, T.³,
Macheka⁶, L., Mombelli, E.¹, Tebby, C.¹, Villegier^{1,2}, A.S., Zaros, C.,⁷, Appenzeller, BMR⁶.

¹ Unité Toxicologie Expérimentale et Modélisation Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, 60550 Verneuil-en-Halatte, France

²PériTox, UMR_I 01, CURS, Université de Picardie Jules Verne, Chemin du Thil, 80025 Amiens, France

³ Université Paris Cité, T3S, Inserm UMR-S1124, Paris F-75006, France

⁴ Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail) - UMR_S 1085, F-35000, Rennes, France

⁵ Unité Expertise Toxicologique et Ecotoxicologique des Substances ; INERIS ; Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, 60550 Verneuil-en-Halatte, France

⁶ Human Biomonitoring Research Unit – Department of Precision Health; Luxembourg Institute of Health, L-1445 Strassen, Luxembourg.

⁷ Ined-Inserm-EFS - Unité mixte Elfe (Campus Condorcet - Aubervilliers - France)

RESUME

Les périodes prénatale et néonatale constituent des fenêtres de sensibilité vis-à-vis des contaminants chimiques de l'environnement. Un nombre croissant d'études épidémiologiques et toxicologiques suggère que l'exposition aux pesticides pendant ces périodes pourrait impacter la santé des enfants à la naissance ainsi que leur développement, avec des retentissements possibles tout au long de la vie.

Le projet NEUROPHYTO est un nouveau projet de recherche qui vise à évaluer les expositions aux produits phytosanitaires d'enfants français lors de la période prénatale à la petite enfance et à étudier les effets possibles de ces expositions sur leur développement moteur et neuropsychologique.

De nouvelles données d'exposition seront produites : les concentrations de 140 pesticides et métabolites seront mesurés dans les échantillons biologiques (urine et cheveux) de 200 enfants de la cohorte nationale Elfe (Etude longitudinale française depuis l'enfance). Les concentrations de substance(s) active(s) dans le cerveau seront estimées par modélisation puis mis en relation avec des effets neurodéveloppementaux précoces. Deux approches seront mises en œuvre afin de mieux identifier et caractériser ces liens : l'une épidémiologique et l'autre basée sur la compréhension des

mécanismes de neurotoxicité des substances. Enfin, une analyse spécifique des risques pour les enfants permettra d'appuyer les politiques publiques en apportant des éléments ciblés sur les fenêtres de sensibilité pré et postnatales.

ABSTRACT

Prenatal and neonatal periods are windows of vulnerability to environmental chemical contaminants. A growing number of epidemiological and toxicological studies suggest that exposure to pesticides during these periods may impact the health of children at birth as well as their development, with potential delayed adverse effects.

The NEUROPHYTO project is a new research project that aims to evaluate the exposure to pesticides of French children from prenatal period to early childhood and to study the possible effects of these exposures on their motor and neuropsychological development.

New exposure data will be generated: levels of 140 pesticides and metabolites will be measured in biological samples (urine and hair) of 200 children from the national cohort Elfe (French longitudinal study of children). The levels of active substance(s) in the brain will be estimated using a mathematical model and then related to early neurodevelopmental effects. Two approaches will be used to better identify and characterize these links. The first strategy will rely on epidemiological methods and the second will be based on the understanding of the neurotoxicity mechanisms of the substances. Finally, a child-specific risk analysis will provide support to public policies by targeted evidence during pre- and post-natal windows of vulnerability.

INTRODUCTION

La période prénatale ainsi que la période néonatale constituent des fenêtres de sensibilité lors d'exposition aux contaminants chimiques de l'environnement. L'exposition durant cette période peut être responsable de pathologies apparaissant chez l'enfant ou même plus tard à l'âge adulte (troubles du développement immunitaire et neurocomportemental, pathologies respiratoires, perturbations hormonales...). En effet, un nombre croissant d'études épidémiologiques et toxicologiques suggère un rôle de l'exposition aux pesticides pendant la grossesse sur la santé des enfants à la naissance ainsi que sur leur développement. Par exemple, certains pesticides comme les organophosphorés, les organochlorés, les carbamates ou les pyréthrinoïdes sont suspectés d'exercer une action neurotoxique chez le fœtus et le jeune enfant (Viel et al., 2015). Cependant, les études portant sur l'association entre l'exposition à ces substances et le neurodéveloppement des enfants sont actuellement encore insuffisantes en nombre et par la qualité de la mesure de l'exposition chez l'Homme. En effet, l'association entre l'exposition aux pyréthrinoïdes durant la grossesse et la survenue de troubles du neurodéveloppement n'a été évaluée que dans quelques études (Shelton et al., 2014; Viel et al., 2015). Pour le chlorpyrifos, des associations positives entre exposition prénatale et diminution du QI global et de la mémoire de travail ont pu être mises en évidence à l'âge de 3 ans (Guo et al., 2019; Rauh et al., 2006) et de 7 ans (Rauh et al. 2011).

CONCEPT DU PROJET, OBJECTIFS ET POPULATION D'ETUDE

Le projet NEUROPHYTO a pour objectif de réaliser tout d'abord un état des lieux de l'exposition aux produits phytosanitaires des enfants français de la période *in utero* aux 3 ans et demi grâce aux dosages de nombreux biomarqueurs d'exposition dans les urines et dans les cheveux de 200 enfants de la cohorte nationale Elfe (Charles, M. A., et al. 2020).

La cohorte Elfe (www.elfe-france.fr) consiste en un suivi longitudinal d'enfants nés en 2011 en France métropolitaine. Près de 18 000 enfants nés en 2011 ont été inclus dans l'étude. Des questionnaires et des prélèvements ont été réalisés aux différents âges de la vie de l'enfant afin de rendre compte de

son développement et de son évolution (Figure 1). Des données ont été recueillies chez la femme enceinte et chez le nouveau-né à la naissance, puis aux deux mois de l'enfant, à ses 1 an, 2 ans, 3 ans et demi. Des prélèvements biologiques chez la mère (urine, cheveux) ont été réalisés ainsi que chez les enfants de 3,5 ans (urine et cheveux).

Des mesures d'imprégnation biologique issues de diverses matrices et à différents moments de la vie de l'enfant (urines et cheveux, incluant ceux des mères pour la période prénatale) couplées à de la modélisation permettront de quantifier l'exposition des enfants *in utero* notamment au niveau du cerveau fœtal. De nouvelles connaissances sur les expositions des jeunes enfants aux substances phytopharmaceutiques et leurs risques associés possibles sur le développement neuropsychologique et moteur des enfants seront apportées (Figure 2).

L'originalité du projet NEUROPHYTO vient du regroupement au sein d'un même projet de différentes méthodologies classiquement appliquées séparément : biosurveillance, épidémiologie, modélisation toxicocinétique, toxicologie computationnelle et évaluation de risques pour la santé humaine.

Le projet se compose de trois parties (Figure 3) : évaluation de l'exposition aux produits phytopharmaceutiques, étude des effets neurotoxiques et neurodéveloppement de l'enfant et évaluation des risques des produits phytopharmaceutiques chez l'enfant.

EXPOSITION AUX PRODUITS PHYTOPHARMACEUTIQUES

- [Dosages dans les urines et les cheveux](#)

Deux matrices complémentaires ont été sélectionnées : les cheveux, permettant l'analyse des pesticides parents et de leurs métabolites et fournissant une information représentative de l'exposition chronique, et les urines, dans lesquelles sont recherchés les métabolites de pesticides et qui fournissent une information représentative de l'exposition récente.

L'exposition *in utero* aux produits phytopharmaceutiques a pu être établie grâce aux résultats obtenus dans le cadre de projets antérieurs, par l'analyse des cheveux (Béranger et al., 2018) et urines (Dereumeaux et al., 2018) prélevés chez les mères en maternité, à la naissance des enfants.

L'exposition post-natale sera évaluée dans ce projet par de nouveaux dosages sur des prélèvements de cheveux et urines, réalisés en partie sur ces mêmes enfants à 3,5 ans (en fonction des échantillons disponibles) dans le cadre de ce projet (environ 200 dosages/matrice). Les pesticides recherchés seront ceux précédemment identifiés dans les études de Béranger et al., (2018) et Dereumeaux et al. (2018).

Au final, les résultats obtenus en parallèle pour un même sujet sur les deux matrices, urines et cheveux, devraient représenter la meilleure approche actuellement disponible pour caractériser l'exposition des enfants aux produits phytopharmaceutiques sur les périodes *in utero* (données mères maternité) et post-natale (données enfants 3.5 ans) (Figure 1).

- [Développement de modèles PBPK pour le chlorpyrifos \(CPF\) et pour la famille des pyréthriinoïdes couvrant la période *in utero* à la petite enfance et estimation de doses internes au niveau de tissu cible \(sang, cerveau\)](#)

Deux modèles PBPK couvrant la période *in utero* à post-natale seront développés : un premier pour la famille des composés pyréthriinoïdes les plus prévalents et un second pour le chlorpyrifos (l'organophosphoré le plus vendu en France en 2011 selon la Banque de données de ventes de produits phytosanitaires en France). Ces modèles fondés sur la description des processus ADME (absorption, distribution, métabolisme, élimination), sur la physiologie et l'anatomie des individus ainsi que sur les propriétés physico-chimiques des composés permettront de prédire des concentrations internes au niveau de tissus cibles pour différentes conditions (Quindroit et al., 2019). Ces modèles ont été choisis car ils peuvent intégrer des modifications physiologiques spécifiques à l'âge ou à la grossesse.

Une fois les modèles PBPK développés, l'ensemble des dosages des 200 enfants de la cohorte sera analysé par la modélisation PBPK afin de prédire l'exposition au niveau des tissus cibles notamment au niveau du cerveau. Pour chacun des 200 enfants, les concentrations internes dans les organes/tissus

seront déterminées au stade prénatal et à 3,5 ans grâce aux mesures urinaires chez la mère et les enfants.

EFFETS NEUROTOXIQUES ET NEURODEVELOPPEMENT DE L'ENFANT

- Approche épidémiologique

Les scores obtenus à différents tests réalisés dans le cadre de la cohorte Elfe, permettant d'appréhender le développement cognitif des enfants, seront utilisés dans le projet NEUROPHYTO afin d'investiguer le lien entre exposition et effets neurodéveloppementaux (Figure 2). Dans une première partie de l'approche épidémiologique mise en œuvre dans le projet, il s'agira de faire un bilan précis des domaines cognitifs et psychomoteurs de l'enfant. Le développement lexical et le comportement langagier et socio-émotionnel (symptômes évocateurs de troubles du spectre autistique) associés seront estimés notamment grâce aux tests « Modified Checklist for Autism in Toddlers » (M-CHAT) (échelle allant de 0 à 23) et « MacArthur-Bates Communicative Development Inventories » (MB-CDI) (échelle 0 à 100) réalisés aux 2 ans de l'enfant. Le développement psychomoteur des enfants sera aussi investigué à partir de l'Inventaire du Développement de l'enfant, réalisé à 1 an et à 3,5 ans, ainsi que l'attention visuelle à partir du test « Picture Similarities du British Ability Scales » (BAS3) réalisé à 3,5 ans.

Une seconde étape sera d'étudier les liens statistiques entre les doses internes estimées en particulier pour les pyréthrinoïdes niveau du cerveau et les paramètres du neurodéveloppement (évalués à 1, 2 et 3,5 ans de l'enfant), en s'intéressant plus particulièrement aux effets neurotoxiques précoces. Les facteurs de risque et de confusion majeurs (comme les facteurs sociodémographiques, la présence d'une fratrie, le poids de naissance) ont été collectés et seront pris en compte dans ces analyses. Des modèles de régression de type linéaire ou logistique combinés à l'utilisation de graphe orienté acyclique (DAG), ou des modèles d'équations structurelles permettant de tenir compte de la trajectoire de santé neurodéveloppementale de l'enfant, seront mis en place (Costet et al., 2018).

En parallèle, avec un objectif plus exploratoire, des approches d'apprentissage automatique (machine learning) supervisées et non supervisées (Hastie et al., 2009) seront appliquées à l'ensemble d'informations disponibles. L'application de ces techniques aura pour objectif de déterminer s'il est possible d'identifier des signatures d'exposition ayant un pouvoir prédictif vis-à-vis des effets sur le neurodéveloppement des enfants.

- Modèles mécanistiques des chemins menant à des effets néfastes (Adverse Outcome Pathway ou AOP)

Les données existantes relatives aux liens entre les produits phytosanitaires étudiés, des évènements biologiques à divers niveaux de l'organisation biologique et des maladies peuvent être très dispersées (littérature, base de données). Un outil récemment développé appelé AOP-helpFinder (<http://aop-helpfinder.u-paris-sciences.fr>) sera utilisé dans le projet (Carvaillo et al., 2019). Cet outil hybride basé sur une méthode d'intelligence artificielle, utilise le 'text mining' (exploitation de texte) et la théorie des graphes afin d'extraire automatiquement des termes co-occurents dans des résumés d'articles scientifiques issus de la base de données PubMed. La première étape consistera à créer deux dictionnaires : un premier pour les produits phytosanitaires d'intérêt et leurs synonymes (chlorpyrifos et pyréthriinoïdes) afin d'identifier le maximum de connaissances ; et un second dictionnaire pour les évènements biologiques, pouvant être des évènements moléculaires initiateurs (MIE), des évènements biologiques clés (KE) ou encore des effets néfastes (AO) relatifs au neurodéveloppement. Enfin, les 34 millions de résumés d'articles actuellement disponibles dans la base de données PubMed seront criblés automatiquement pour les composés d'intérêt. L'outil AOP-helpFinder permettra d'identifier des co-occurrences composés-évènements biologiques, et de quantifier les différentes associations identifiées par le calcul de scores.

L'analyse des résultats permettra de proposer de nouveaux mécanismes d'actions des produits phytosanitaires en lien avec le système neurodéveloppemental et de proposer de nouveaux chemins menant à des effets néfastes (AOP) ayant comme stressseurs les produits phytosanitaires. Nous

pourrons aussi proposer de nouveaux AOP et/ou améliorer ceux existants (<https://aopwiki.org/>). Tous les AOP proposés respecteront les préconisations de l'OCDE (2017).

EVALUATION DES RISQUES CUMULES DES PRODUITS PHYTOPHARMACEUTIQUES CHEZ L'ENFANT

La dernière étape de ce projet portera sur l'évaluation quantitative des risques cumulés des pesticides sur le neurodéveloppement. Une recherche des Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR) existantes pour différentes expositions (aigüe, sub-chronique et chronique via les voies orale et respiratoire) sera menée sur les principaux organismes français et étrangers reconnus dans le domaine. Une analyse des différentes VTR disponibles sera réalisée afin de choisir la valeur la plus pertinente pour chacune des durées et voie d'exposition. Une analyse comparative de ces valeurs sera réalisée par rapport aux valeurs d'exposition estimées dans le projet. Finalement, il s'agira notamment de vérifier si les niveaux d'exposition mesurés dépassent ceux recommandés par les VTR pour chacune des substances. Des indicateurs biologiques d'exposition spécifiques pour les enfants (marqueurs urinaires) seront estimés à partir des VTR recommandées en utilisant les modèles PBPK spécifiques développés pour les jeunes enfants. Ils pourront être proposés pour un suivi des populations en cas d'exposition.

Une recherche bibliographique complémentaire sera mise en œuvre pour identifier si des études récentes permettraient de proposer une valeur de type VTR plus adaptée à la protection des effets chez les enfants. Si les données disponibles sont suffisantes pour pouvoir envisager la construction d'une valeur, celle-ci sera réalisée selon les recommandations méthodologiques par l'Anses (2017).

Bibliographie

Anses (2017). Valeurs Toxicologiques de Référence – Guide d'élaboration de l'Anses

Béranger R, Hardy EM, Dexet C, Guldner L, Zaros C, Nougadère A *et al.* (2018). Multiple pesticide analysis in hair samples of pregnant French women: Results from the ELFE national birth cohort. *Environment International* 120(43-53).

Carvaillo J-C, Barouki R, Coumoul X, Audouze K (2019). Linking Bisphenol S to Adverse Outcome Pathways Using a Combined Text Mining and Systems Biology Approach. *Environmental Health Perspectives* 127(4):047005.

Charles MA, Thierry X, Lanoe JL, et al. Cohort profile: the French National cohort of children ELFE: birth to 5 years. *Int J Epidemiol.* 2020;49(2):368–369j.

Costet N, Béranger R, Garlantézec R, Rouget F, Monfort C, Cordier S *et al.* (2018). Occupational exposure to organic solvents during pregnancy and childhood behavior: findings from the PELAGIE birth cohort (France, 2002–2013). *Environmental Health* 17(1):63.

Dereumeaux C, Saoudi A, Gorla S, Wagner V, De Crouy-Chanel P, Pecheux M *et al.* (2018). Urinary levels of pyrethroid pesticides and determinants in pregnant French women from the Elfe cohort. *Environment International* 119(89-99).

Furlong CE, Cole TB, Jarvik GP, Pettan-Brewer C, Geiss GK, Richter RJ *et al.* (2005). Role of paraoxonase (PON1) status in pesticide sensitivity: genetic and temporal determinants. *Neurotoxicology* 26(4):651-659.

Guo J, Zhang J, Wu C, Lv S, Lu D, Qi X *et al.* (2019). Associations of prenatal and childhood chlorpyrifos exposure with Neurodevelopment of 3-year-old children. *Environ Pollut* 251(538-546).

Jornod F, Jaylet T, Blaha L, Sarigiannis D, Tamisier L, Audouze K. (2022) AOP-helpFinder webservice: a tool for comprehensive analysis of the literature to support adverse outcome pathways development. *Bioinformatics* 38(4): 1173–1175.

OECD Guidance Document on Developing and Assessing Adverse Outcome Pathways (ENV/JM/MONO(2013)6), 2017

Quindroit P, Beaudouin R, Brochot C (2019). Estimating the cumulative human exposures to pyrethroids by combined multi-route PBPK models: Application to the French population. *Toxicology letters* 312(125-138).

Rauh V, Arunajadai S, Horton M, Perera F, Hoepner L, Barr DB *et al.* (2011). Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. *Environmental health perspectives* 119(8):1196-1201.

Rauh VA, Garfinkel R, Perera FP, Andrews HF, Hoepner L, Barr DB *et al.* (2006). Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Pediatrics* 118(6):e1845-e1859.

Rugard M, Coumoul X, Carvaillo JC, Barouki R, Audouze K (2020). Deciphering Adverse Outcome Pathway Network Linked to Bisphenol F Using Text Mining and Systems Toxicology Approaches. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 173(1):32-40.

Shelton JF, Geraghty EM, Tancredi DJ, Delwiche LD, Schmidt RJ, Ritz B *et al.* (2014). Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: the CHARGE study. *Environmental health perspectives* 122(10):1103-1109.

Viel J-F, Warembourg C, Le Maner-Idrissi G, Lacroix A, Limon G, Rouget F *et al.* (2015). Pyrethroid insecticide exposure and cognitive developmental disabilities in children: the PELAGIE mother–child cohort. *Environment international* 82(69-75).

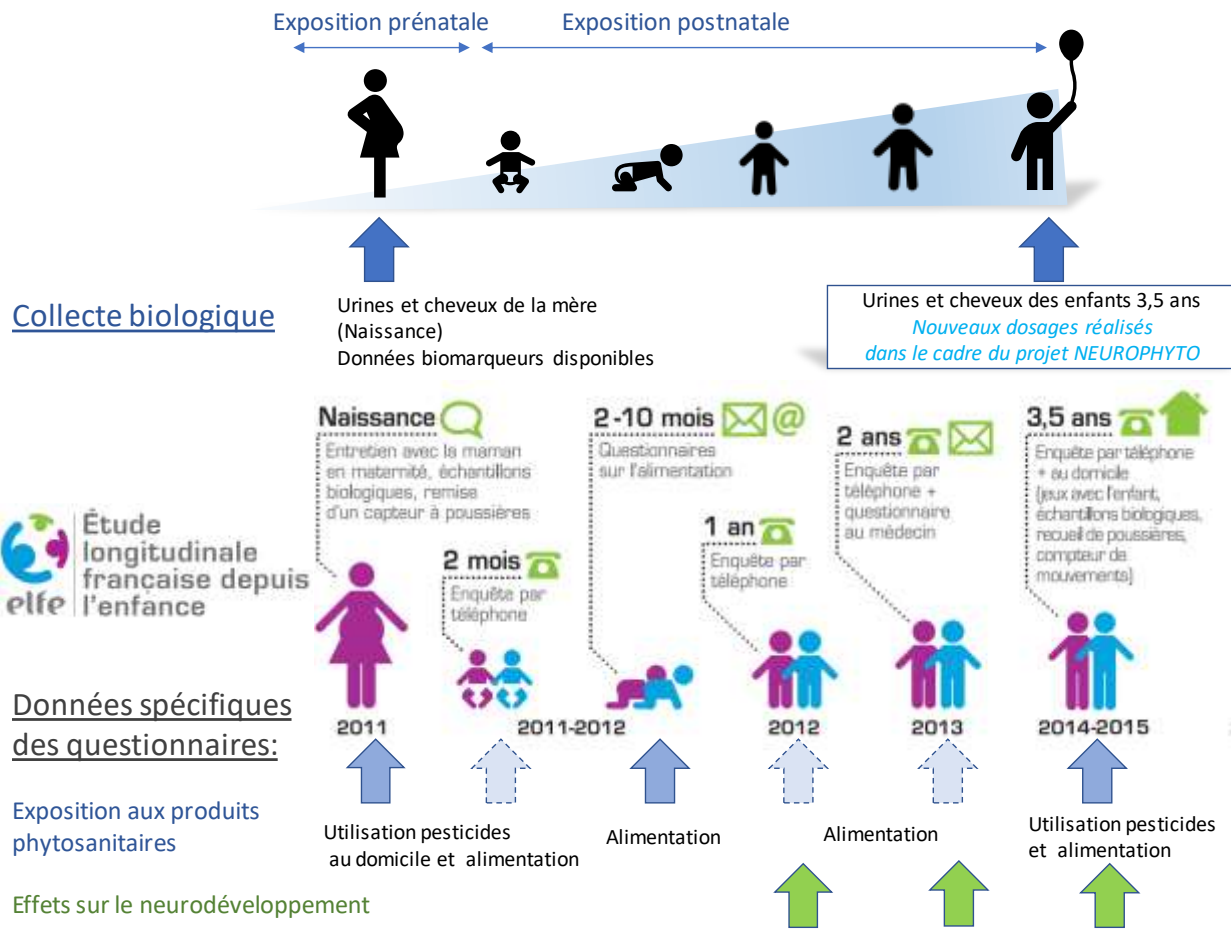


Figure 1 : Données et échantillons de la cohorte Elfe dans le cadre du projet NEUROPHYTO

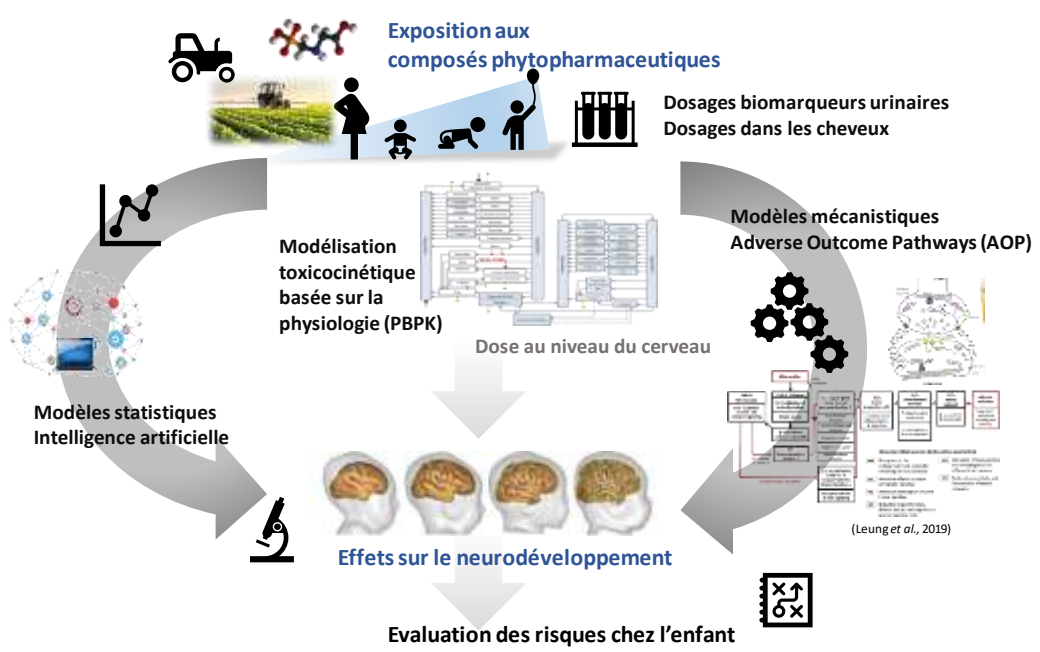


Figure 2 : Présentation du projet NEUROPHYTO

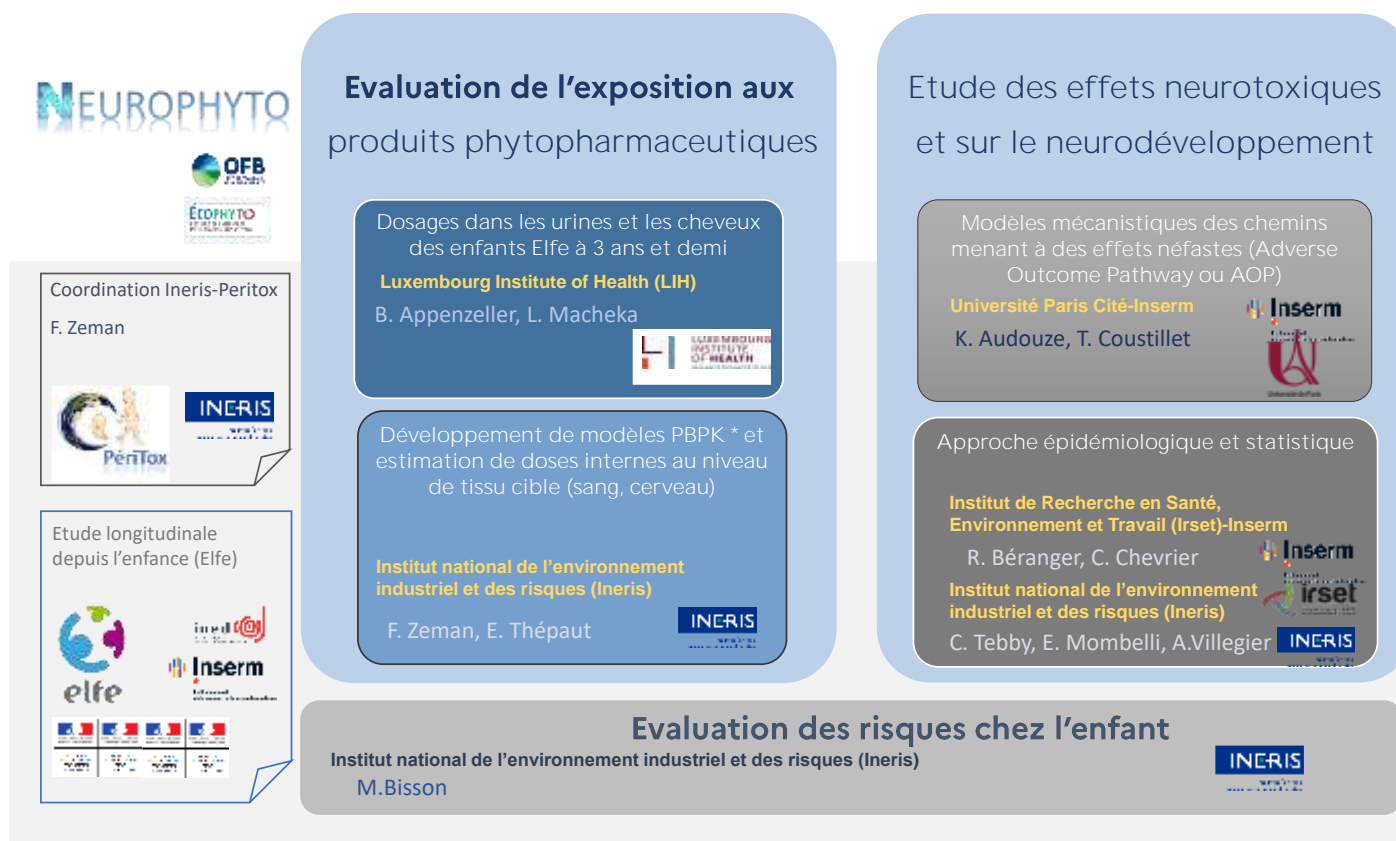


Figure 3 : Organisation des différents thèmes du projet NEUROPHYTO

*Modélisation pharmacocinétique basée sur la physiologie

Remerciement

Cette action est pilotée par les Ministères de l'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire (MASA), de la Transition écologique et de la Cohésion des Territoires (MTECT), de la Santé et de la Prévention (MSP) et de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (MESR), avec l'appui financier de l'Office Français de la Biodiversité, dans le cadre de l'APR « Produits phytopharmaceutiques : de l'exposition aux impacts sur la santé humaine et les écosystèmes », grâce aux crédits issus de la redevance pour pollutions diffuses attribués au financement du plan Écophyto II+ . Ce projet est cofinancé par le ministère de la transition écologique (P190-Toxicologie).

Les auteurs remercient l'unité mixte Ined-Inserm-EFS Elfe pour le travail de collecte et de mise à disposition des données de la Cohorte Elfe utilisées pour le présent projet. L'enquête Elfe est une réalisation conjointe de l'Institut national d'études démographiques (Ined), de l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm), de l'Établissement français du sang (EFS), de Santé publique France, de l'Institut national de la statistique et des études économiques (Insee), de la Direction générale de la santé (DGS, Ministère en charge de la santé), de la Direction générale de la prévention des risques (DGPR, Ministère en charge de l'Environnement), de la Direction de la recherche, des études, de l'évaluation et des statistiques (Drees, Ministères en charge de la santé et des affaires sociales), du Département des études, de la prospective et des statistiques (DEPS, Ministère en charge de la Culture) et de la Caisse nationale des allocations familiales (Cnaf), avec le soutien du Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation et de l'Institut national de la jeunesse et de l'éducation populaire (INJEP). Dans le cadre de la plateforme RECONAI, l'enquête Elfe bénéficie d'une aide de l'État gérée par l'Agence nationale de la recherche au titre du programme Investissements d'avenir portant les références ANR-11-EQPX-0038 et ANR-19-COHO-0001.