Pesticides et effets sur la santé : Nouvelles données

Isabelle Baldi, Botton Jérémie, Cécile Chevrier, Xavier Coumoul, Alexis Elbaz, Stéphanie Goujon, Jean-Noël Jouzel, Alain Monnereau, Luc Multigner, Bernard Salles, et al.

▶ **To cite this version:**

Isabelle Baldi, Botton Jérémie, Cécile Chevrier, Xavier Coumoul, Alexis Elbaz, et al.. Pesticides et effets sur la santé : Nouvelles données. [Rapport de recherche] Inserm (dir.). Pesticides et effets sur la santé - Nouvelles données. Collection Expertise collective. Montrouge : EDP Sciences, 2021., Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). 2021, Paris : Inserm : Editions EDP Sciences (ISSN : 0990-7440) / XIX - 1009 p. inserm-03384960

HAL Id: inserm-03384960
https://inserm.hal.science/inserm-03384960

Submitted on 19 Oct 2021

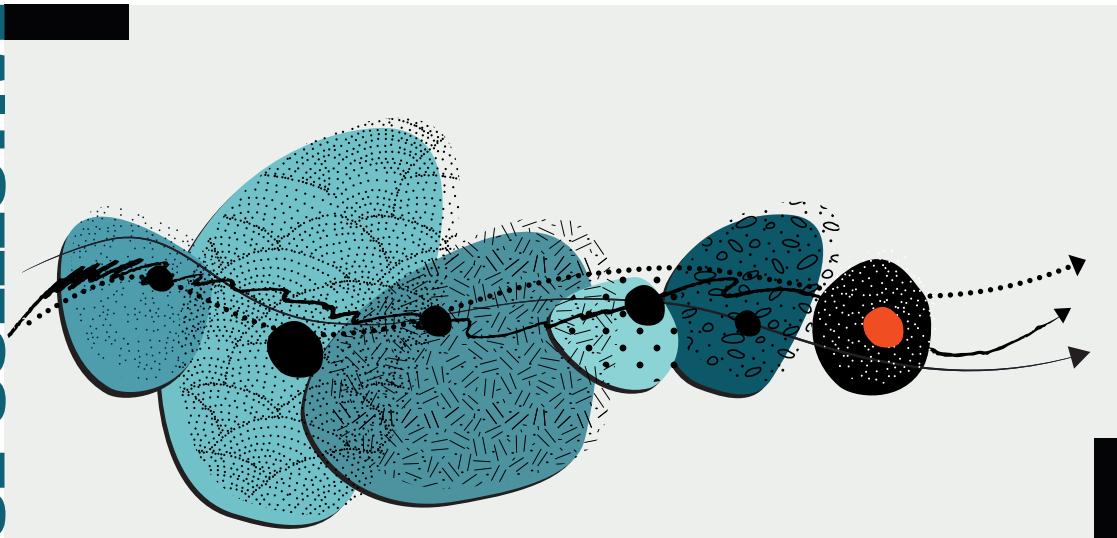
HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

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.

Inserm

La science pour la santé
From science to health

EXPERTISE COLLECTIVE



Pesticides et effets sur la santé

Nouvelles données

Pesticides et effets sur la santé

Nouvelles données

Pesticides et effets sur la santé. Nouvelles données © Éditions EDP Sciences, 2021

978-2-7598-2629-2

Dans la même collection

© Les éditions Inserm

- ¬ Tabagisme. Prise en charge chez les étudiants. 2003
- ¬ Tabac. Comprendre la dépendance pour agir. 2004
- ¬ Psychothérapie. Trois approches évaluées. 2004
- ¬ Déficiences et handicaps d'origine périnatale. Dépistage et prise en charge. 2004
- ¬ Tuberculose. Place de la vaccination dans la maladie. 2004
- ¬ Suicide. Autopsie psychologique, outil de recherche en prévention. 2005
- ¬ Cancer. Approche méthodologique du lien avec l'environnement. 2005
- ¬ Trouble des conduites chez l'enfant et l'adolescent. 2005
- ¬ Cancers. Pronostics à long terme. 2006
- ¬ Éthers de glycol. Nouvelles données toxicologiques. 2006
- ¬ Déficits auditifs. Recherches émergentes et applications chez l'enfant. 2006
- ¬ Obésité. Bilan et évaluation des programmes de prévention et de prise en charge. 2006
- ¬ La voix. Ses troubles chez les enseignants. 2006
- ¬ Dyslexie, dysorthographie, dyscalculie. Bilan des données scientifiques. 2007
- ¬ Maladie d'Alzheimer. Enjeux scientifiques, médicaux et sociétaux. 2007
- ¬ Croissance et puberté. Évolutions séculaires, facteurs environnementaux et génétiques. 2007
- ¬ Activité physique. Contextes et effets sur la santé. 2008
- ¬ Autopsie psychologique. Mise en œuvre et démarches associées. 2008
- ¬ Saturnisme. Quelles stratégies de dépistage chez l'enfant. 2008
- ¬ Jeux de hasard et d'argent. Contextes et addictions. 2008
- ¬ Cancer et environnement. 2008
- ¬ Tests génétiques. Questions scientifiques, médicales et sociétales. 2008
- ¬ Santé de l'enfant. Propositions pour un meilleur suivi. 2009
- ¬ Transplantation d'organes. Quelles voies de recherche ? 2009
- ¬ Santé des enfants et des adolescents. Propositions pour la préserver. 2009
- ¬ Réduction des risques infectieux chez les usagers de drogues. 2010
- ¬ Téléphone et sécurité routière. 2011
- ¬ Stress au travail et santé. Situation chez les indépendants. 2011
- ¬ Reproduction et environnement. 2011
- ¬ Médicaments psychotropes. Consommations et pharmacodépendances. 2012
- ¬ Handicaps rares. Contextes, enjeux et perspectives. 2013
- ¬ Pesticides. Effets sur la santé. 2013
- ¬ Conduites addictives chez les adolescents. Usages, prévention et accompagnement. 2014
- ¬ Inégalités sociales de santé en lien avec l'alimentation et l'activité physique. 2014
- ¬ Activité physique et prévention des chutes chez les personnes âgées. 2015

© Éditions EDP Sciences

- ¬ Déficiences intellectuelles. 2016
- ¬ Agir sur les comportements nutritionnels. 2017
- ¬ Activité physique. Prévention et traitement des maladies chroniques. 2019
- ¬ Trouble développemental de la coordination ou dyspraxie. 2019
- ¬ Fibromyalgie. 2020
- ¬ Essais nucléaires et santé. Conséquences en Polynésie française. 2020
- ¬ Réduction des dommages associés à la consommation d'alcool. 2021

DANGER
LE PHOTOCOPILLAGE TUE LE LIVRE

Ce logo rappelle que le code de la propriété intellectuelle du 1er juillet 1992 interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants-droits.
Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique.

Toute reproduction, partielle ou totale, du présent ouvrage est interdite sans autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC, 20 rue des Grands-Augustins, 75006 Paris).

Inserm

La science pour la santé
From science to health

EXPERTISE COLLECTIVE

Pesticides et effets sur la santé

Nouvelles données

Ce rapport présente les travaux du groupe d'experts réunis par l'Inserm dans le cadre de la procédure d'expertise collective (voir annexe 1) pour répondre à la demande de cinq directions de l'État, la Direction générale de la prévention des risques, la Direction générale de la santé, la Direction générale du travail, la Direction générale de la recherche et de l'innovation, ainsi que le secrétariat général du ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation. Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'actualisation du rapport d'expertise collective Inserm intitulé « Pesticides : Effets sur la santé », publié en 2013.

Ce travail s'appuie essentiellement sur les données issues de la littérature scientifique disponible en date du premier trimestre 2020. Plus de 5 300 documents ont été rassemblés à partir de l'interrogation de différentes bases de données (PubMed/Medline, Scopus, Cairn...) (voir annexe 2) et des recherches complémentaires ont été effectuées par les experts ou en collaboration avec le Pôle expertise collective.

Le Pôle expertise collective de l'Inserm, rattaché à l'Institut thématique Santé publique, a assuré la coordination de cette expertise.

Pour citer ce document :

Inserm. Pesticides et effets sur la santé : Nouvelles données. Collection Expertise collective. Montrouge : EDP Sciences, 2021.

Pour accéder aux expertises collectives en ligne :
https://www.ipubli.inserm.fr/handle/10608/1
http://www.inserm.fr/thematiques/sante-publique/expertises-collectives

Experts[1] et auteurs

Isabelle BALDI, Équipe EPICENE – Épidémiologie des cancers et expositions environnementales, Centre de recherche Inserm U 1219, Université de Bordeaux, Bordeaux

Jérémie BOTTON, Epi-Phare ANSM-Cnam, Épidémiologie des produits de santé, Saint-Denis

Cécile CHEVRIER, Évaluation des expositions et recherche épidémiologique sur l'environnement, la reproduction et le développement, Inserm U 1085, Université Rennes 1, EHESP, Rennes

Xavier COUMOUL, Inserm T3S – UMR-S 1124, Toxicité environnementale, cibles thérapeutiques, signalisation cellulaire, équipe METATOX, UFR des Sciences Fondamentales et Biomédicales, Université de Paris, Paris

Alexis ELBAZ, Inserm U 1018, Centre de recherche en épidémiologie et santé des populations, Villejuif

Stéphanie GOUJON, Épidémiologie des cancers de l'enfant et de l'adolescent, Inserm UMR 1153 Équipe 7 (EPICEA), Université Paris Descartes, Villejuif

Jean-Noël JOUZEL, Centre de sociologie des organisations, Paris

Alain MONNEREAU, Registre des hémopathies malignes de la Gironde, Institut Bergonié et Épidémiologie des cancers et expositions environnementales, Centre de recherche Inserm U 1219, Bordeaux

Luc MULTIGNER, Évaluation des expositions et recherche épidémiologique sur l'environnement, la reproduction et le développement, Inserm U 1085, Université Rennes 1, EHESP, Rennes

Bernard SALLES, Toxalim (*Research Centre in Food Toxicology*), Université de Toulouse, UMR 1331 INRAE/INP/UPS, Toulouse

Valérie SIROUX, Équipe d'épidémiologie environnementale appliquée au développement et à la santé respiratoire, Institut pour l'Avancée des Biosciences, Inserm U 1209, CNRS UMR 5309, Université Grenoble Alpes, Grenoble

Johan SPINOSI, Santé publique France, Direction Santé-Environnement-Travail, Saint-Maurice

Experte invitée

Sylvie BORTOLI[2], Inserm T3S – UMR-S 1124, Toxicité environnementale, cibles thérapeutiques, signalisation cellulaire, équipe METATOX, UFR des Sciences Fondamentales et Biomédicales, Université de Paris, Paris

---

1. Les experts et les auteurs d'un chapitre ou d'une communication ont signé une déclaration de liens d'intérêts conformément aux dispositions de la Charte de l'expertise à l'Inserm.
2. Sylvie Bortoli a présenté une communication devant le groupe sur les « Fongicides inhibiteurs de succinate déshydrogénase » puis a proposé un texte qui a été complété et retravaillé collectivement.

Ont présenté une communication

Pierre LEBAILLY, Inserm U 1086 « ANTICIPE », Université de Caen Normandie, Caen

Danièle LUCE, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail) – Inserm UMR-S 1085, Équipe Ester, Pointe-à-Pitre, Guadeloupe

A relu un chapitre

Olivier CUSSENOT[3], Urologie, service d'urologie de l'Hôpital Tenon, Paris

Remerciements

Remerciements pour relecture et conseils à :

Bertrand BED'HOM et Isabelle JOUET, au titre de rapporteurs pour le Comité d'éthique de l'Inserm

Coordination scientifique, éditoriale, bibliographique et logistique

Pôle expertise collective de l'Inserm

Responsable : Laurent FLEURY

Coordination de cette expertise : Catherine CHENU, Scott HARVEY, Anne ROCHAT

Documentation : Bénédicte VARIGNON, Chantal GRELLIER, Pascalines CHAUSSENOT

Édition scientifique : Anne-Laure PELLIER

Secrétariat : Cécile GOMIS

3. Olivier Cussenot a relu le chapitre sur le cancer de la prostate sous sa forme publiée en février 2019 « Exposition aux pesticides et au chlordécone, Risque de survenue d'un cancer de la prostate ». Cette version est accessible depuis la page internet suivante : https://www.inserm.fr/information-en-sante/expertises-collectives/pesticides-effets-sur-sante [consulté le 17 mai 2021].

Résumé

Les pesticides regroupent l'ensemble des produits utilisés pour lutter contre les espèces végétales indésirables et les organismes jugés nuisibles. Qu'il s'agisse de pesticides autorisés aujourd'hui ou utilisés par le passé (dont certains sont rémanents), ils suscitent des inquiétudes concernant leurs effets possibles sur la santé humaine et plus largement sur l'environnement. Afin de mieux apprécier leurs effets sanitaires, l'Inserm a été saisi en 2018 par cinq directions générales ministérielles en vue d'actualiser l'expertise collective intitulée « Pesticides : Effets sur la santé » publiée en 2013.

L'expertise collective de 2021 dresse un bilan des connaissances dans le domaine au travers d'une analyse critique de la littérature scientifique internationale publiée depuis 2013. Plus de 5 300 documents ont été rassemblés et analysés par un groupe d'experts multidisciplinaire. L'expertise commence par une analyse sociologique de la montée des préoccupations concernant les pesticides et une présentation des connaissances sur l'exposition aux pesticides de la population française, puis elle aborde une vingtaine de pathologies dont les troubles du développement neuropsychologique et moteur de l'enfant, les troubles cognitifs et anxio-dépressifs de l'adulte, les maladies neurodégénératives, les cancers de l'enfant et de l'adulte, l'endométriose, et les pathologies respiratoires ainsi que thyroïdiennes. Une dernière partie est consacrée à des pesticides ou familles de pesticides particuliers : le chlordécone, le glyphosate et les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHi). La présomption d'un lien entre l'exposition aux pesticides et la survenue d'une pathologie est appréciée à partir des résultats des études épidémiologiques évaluées et est qualifiée de forte, moyenne ou faible. Ces résultats sont mis en perspective avec ceux des études toxicologiques pour évaluer la plausibilité biologique des liens observés.

Exposition en milieu professionnel

En considérant les études sur des populations qui manipulent ou sont en contact avec des pesticides régulièrement, et qui sont a priori les plus exposées, l'expertise confirme la **présomption forte** d'un lien entre l'exposition aux pesticides et six pathologies : lymphomes non hodgkiniens (LNH), myélome multiple, cancer de la prostate, maladie de Parkinson, troubles cognitifs, bronchopneumopathie chronique obstructive et bronchite chronique. Pour

les LNH, il a été possible de préciser des liens (**présomption forte**) avec des substances actives (malathion, diazinon, lindane, DDT) et avec une famille chimique de pesticides (organophosphorés), et pour la maladie de Parkinson et les troubles cognitifs avec les insecticides organochlorés et les organophosphorés, respectivement. Il s'agit essentiellement de pesticides pour lesquels les études se sont appuyées sur des biomarqueurs permettant de quantifier l'exposition. Les études toxicologiques confirment que les mécanismes d'action de ces substances actives et familles de pesticides sont susceptibles de conduire aux effets sanitaires mis en évidence par les études épidémiologiques.

Des liens ont été identifiés pour d'autres pathologies ou événements de santé avec une **présomption moyenne**. C'est le cas notamment pour la maladie d'Alzheimer, les troubles anxio-dépressifs, certains cancers (leucémies, système nerveux central, vessie, rein, sarcomes des tissus mous), l'asthme et les sifflements respiratoires, et les pathologies thyroïdiennes.

Exposition pendant la grossesse ou l'enfance

Les études épidémiologiques sur les cancers de l'enfant permettent de conclure à une **présomption forte** de lien entre l'exposition aux pesticides de la mère pendant la grossesse (exposition professionnelle ou par utilisation domestique) ou chez l'enfant et le risque de certains cancers, en particulier les leucémies et les tumeurs du système nerveux central.

Les études de cohortes mères-enfants ont permis de caractériser les liens entre l'exposition professionnelle ou environnementale (c'est-à-dire en population générale) des mères pendant la grossesse et les troubles du développement neuropsychologique et moteur de l'enfant. Il est difficile de pointer des substances actives en particulier, mais certaines familles chimiques de pesticides sont impliquées, avec un niveau de **présomption fort**, notamment les insecticides organophosphorés et les pyréthrinoïdes dont l'usage a augmenté en substitution aux insecticides organophosphorés. Le lien entre les organophosphorés et l'altération des capacités motrices, cognitives et des fonctions sensorielles de l'enfant est confirmé et les nouvelles études sur les pyréthrinoïdes mettent en évidence un lien entre l'exposition pendant la grossesse et l'augmentation des troubles du comportement de type internalisé tels que l'anxiété chez les enfants. Les données expérimentales sur des rongeurs suggèrent une hyperperméabilité de la barrière hémato-encéphalique aux pyréthrinoïdes aux stades les plus précoces du développement, confortant la plausibilité biologique de ce lien. De plus, comme le montrent les études récentes d'expologie, ces insecticides, qui ont été à la fois utilisés en

agriculture mais également dans les sphères domestiques, induisent une contamination fréquente des environnements intérieurs.

Exposition des riverains des zones agricoles

Les populations riveraines des zones agricoles peuvent être concernées par la dérive des produits épandus sur les cultures. En effet, des études suggèrent une influence de la proximité aux zones agricoles sur la contamination par les pesticides du lieu de vie, variable selon les substances, leur mode d'application et la manière d'estimer l'exposition. Des études écologiques ou cas-témoins avec géolocalisation reposant sur la caractérisation de l'activité agricole au voisinage des adresses de résidences suggèrent un lien entre l'exposition des riverains des terres agricoles et la maladie de Parkinson, et également entre la proximité résidentielle à des zones d'épandages de pesticides (rayon <1,5 km) et le comportement évocateur des troubles du spectre autistique chez l'enfant. Cependant, ces études présentent des limites importantes liées à l'évaluation fine de l'exposition ou à l'absence de données individuelles, ce qui rend le niveau de **présomption faible**.

Focus sur le chlordécone, le glyphosate et les inhibiteurs de la succinate déshydrogénase

Le chlordécone, insecticide utilisé aux Antilles françaises dans le passé, persiste de nos jours dans les milieux naturels insulaires. La consommation des denrées alimentaires contaminées a entraîné une contamination de l'ensemble de la population. La **présomption forte** d'un lien entre l'exposition au chlordécone de la population générale et le risque de survenue de cancer de la prostate a été confirmée. En considérant l'ensemble des données épidémiologiques et toxicologiques disponibles, la causalité de la relation est jugée vraisemblable.

Concernant l'herbicide glyphosate, l'expertise a conclu à l'existence d'un risque accru de LNH avec une **présomption moyenne** de lien. D'autres surrisques sont évoqués pour le myélome multiple et les leucémies, mais les résultats sont moins solides (**présomption faible**). Une analyse des études toxicologiques montre que les essais de mutagénicité sur le glyphosate sont plutôt négatifs, alors que les essais de génotoxicité sont plutôt positifs, ce qui est cohérent avec l'induction d'un stress oxydant. Les études de cancérogenèse expérimentale chez les rongeurs montrent des excès de cas, mais ne sont pas convergentes. Elles observent des tumeurs différentes, pour les mâles ou les femelles, qui ne se produisent qu'à des doses très élevées et uniquement sur certaines lignées. D'autres mécanismes de toxicité (effets intergénérationnels,

perturbation du microbiote...) sont évoqués qu'il serait intéressant de considérer dans les procédures d'évaluation réglementaire.

Pour les fongicides SDHi, qui perturbent le fonctionnement mitochondrial par l'inhibition de l'activité SDH, un complexe enzymatique impliqué dans la respiration cellulaire et le cycle de Krebs, il n'existe à ce jour pratiquement aucune donnée épidémiologique portant sur les effets possibles de ces substances sur la santé des agriculteurs ou de la population générale. Les études toxicologiques ou mécanistiques montrent que certains SDHi pourraient être considérés comme des perturbateurs endocriniens au moins chez les modèles animaux utilisés (poissons). Alors que les SDHi ne présentent aucune génotoxicité, certains montrent des effets cancérogènes chez les rongeurs mais ce résultat est discuté sur la base d'un mécanisme de cancérogenèse non extrapolable aux humains. Des recherches sont nécessaires pour améliorer l'évaluation du potentiel cancérogène des SDHi, et plus généralement des composés non génotoxiques, et pour combler les lacunes dans les données humaines par le renforcement de la biosurveillance et l'exploitation des cohortes existantes.

En conclusion, l'expertise souligne l'importance de réévaluer périodiquement les connaissances dans ce domaine. La confirmation et la mise en évidence de présomptions fortes de liens entre certaines pathologies et l'exposition aux pesticides doivent orienter les actions publiques vers une meilleure protection des populations. Ces questions relatives aux liens entre une exposition aux pesticides et la survenue de certaines pathologies s'inscrivent dans une complexité croissante, la littérature faisant apparaître une préoccupation concernant les effets indirects de certains pesticides sur la santé humaine par le biais des effets sur les écosystèmes. L'interdépendance en jeu mériterait d'être davantage étudiée et intégrée, au même titre que les aspects sociaux et économiques afin d'éclairer les prises de décisions lors de l'élaboration des politiques publiques.

Sommaire

Avant-propos XV

Synthèse 1

Analyse 97
1. Pesticides et santé : la montée des préoccupations 99
2. Exposition aux pesticides de la population française 113

I. Pathologies neurologiques et atteintes neuropsychologiques 145
3. Développement neuropsychologique de l'enfant 147
4. Troubles cognitifs 191
5. Troubles anxio-dépressifs 211
6. Maladie d'Alzheimer 235
7. Maladie de Parkinson 243
8. Sclérose latérale amyotrophique 269

II. Pathologies cancéreuses 281
9. Cancers de l'enfant 283
10. Tumeurs du système nerveux central 307
11. Hémopathies malignes 347
12. Cancer de la prostate 411
13. Cancer du sein 493
14. Cancers de la vessie et du rein 525
15. Sarcomes des tissus mous et des viscères 571

III. Autres pathologies et évènements de santé 601
16. Santé respiratoire 603
17. Pathologies thyroïdiennes 677
18. Endométriose 759

IV. Focus sur des substances actives 789
19. Glyphosate et formulations à base de glyphosate 791
20. Fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase 881

Communications 953
Cohorte AGRIculture & CANcer (AGRICAN) 955
Cancer du poumon 973

Annexes 1001
Annexe 1 : Expertise collective Inserm : principes et méthode 1003
Annexe 2 : Algorithmes de recherche bibliographique 1007

Avant-propos

Les questions de santé publique que pose l'usage des pesticides sont nombreuses et concernent des pathologies et populations multiples, notamment les consommateurs, les résidents de zones agricoles, les travailleurs du secteur agricole mais aussi d'autres secteurs tels que les employés des parcs et jardins et les particuliers qui recourent à ces produits dans leur foyer. Au cours de la dernière décennie, les controverses relatives aux pesticides se sont surtout multipliées en lien avec leurs usages agricoles et leurs effets sur la santé des agriculteurs, des riverains des parcelles agricoles et des consommateurs de produits traités. Les inquiétudes liées à ces expositions se sont considérablement accrues. Largement relayées par les médias spécialisés et généralistes, elles revêtent des dimensions inextricablement scientifiques et politiques.

En avril 2018, l'Inserm a été saisi par cinq directions de l'État en vue d'actualiser les données contenues dans le rapport d'expertise collective intitulé « Pesticides : Effets sur la santé », publié par l'Institut en 2013. Au cours des six années passées, de nombreuses études ont en effet été publiées dans la littérature scientifique sur les liens entre l'exposition aux pesticides et la santé humaine.

Ce rapport s'appuie sur ces nouvelles données pour dresser un bilan actualisé des connaissances relatives aux liens entre exposition aux pesticides et santé humaine. Il a été rédigé par un groupe de 12 experts de plusieurs disciplines (épidémiologie, toxicologie, expologie et sociologie). Outre ce bilan général portant sur l'ensemble des pesticides, il répond également à deux demandes plus spécifiques de ses commanditaires, relatives à deux substances particulièrement controversées ces dernières années : le glyphosate, dont l'éventuel renouvellement d'autorisation fait actuellement l'objet de discussions au niveau communautaire ; et le chlordécone, insecticide longtemps utilisé en Guadeloupe et en Martinique et soupçonné d'être à l'origine de cas de cancers de la prostate. Les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase ou SDHi, qui font actuellement l'objet d'un débat, ont été également abordés dans un chapitre spécifique.

Le groupe d'experts a sélectionné les pathologies ou évènements de santé pour lesquels suffisamment de nouvelles données ont été publiées au cours des six dernières années pour justifier un travail d'actualisation de l'expertise

collective de 2013. Pour certains, lorsque les résultats étaient assez solides, le groupe d'experts a décidé de faire une mise à jour des connaissances sur le domaine qui a évolué pendant cette période ; et pour d'autres, lorsque les résultats étaient plus fragiles, ou s'il y avait peu de publications, l'ensemble des données produites depuis 2013 a été analysé. Des pathologies qui n'avaient pas pu être abordées en 2013 et pour lesquelles des données sont désormais disponibles, ont été considérées (cancer du sein, cancers du rein et de la vessie, sarcomes des tissus mous et des viscères, pathologies respiratoires, pathologies de la thyroïde et endométriose). Pour chaque pathologie ou évènement de santé d'intérêt pour cette expertise, le groupe s'est d'abord appuyé sur les données issues d'enquêtes épidémiologiques portant sur des populations exposées aux pesticides. En vue d'identifier des relations plus spécifiques entre les problèmes de santé étudiés et certaines substances actives, le groupe d'experts s'est ensuite appuyé sur les résultats des études toxicologiques.

Pour chacune des pathologies ou évènements de santé, après une rapide définition et quelques éléments de contexte, les résultats de l'expertise collective de 2013 sont résumés. Les nouvelles études épidémiologiques publiées depuis sont analysées ainsi que les données toxicologiques qui permettent d'évaluer la plausibilité biologique d'un effet de certaines substances actives. Ces études toxicologiques peuvent également mettre en exergue certaines substances dont le mécanisme d'action apparaît compatible avec le développement de la pathologie et pour lesquelles des études épidémiologiques devraient être envisagées.

Comme pour l'expertise collective Inserm de 2013, les résultats de l'analyse des études épidémiologiques sont synthétisés sous forme de tableaux ; la présomption d'un lien entre l'exposition aux pesticides et la survenue d'une pathologie est appréciée à partir des résultats des études mentionnées en dessous de chacun des tableaux : présomption forte (++), présomption moyenne (+) et présomption faible (±).

Les niveaux de présomption sont évalués selon les grandes lignes suivantes qui sont adaptées de Wigle et coll. (2008) et d'un rapport de l'Académie nationale de médecine des États-Unis (anciennement *US Institute of Medicine*) publié en 2000[4], et qui ont été également utilisées dans l'expertise collective Inserm de 2013 :

4. Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, *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 : 373-517 et Institute of Medicine (US) Committee on the Assessment of Asthma and Indoor Air. Clearing the Air : Asthma and Indoor Air Exposures. Washington (DC) : National Academies Press (US) ; 2000. Chapter 2 : Methodological considerations in evaluating the evidence. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK224476/ [consulté le 29 juin 2020].

• (++) la présomption du lien est forte s'il existe une méta-analyse de bonne qualité qui montre une association statistiquement significative, ou plusieurs études de bonne qualité et d'équipes différentes qui montrent des associations statistiquement significatives ;

• (+) la présomption du lien est moyenne s'il existe au moins une étude de bonne qualité qui montre une association statistiquement significative ;

• (±) la présomption du lien est faible si les études ne sont pas de qualité suffisante ou sont incohérentes entre elles ou n'ont pas la puissance statistique suffisante pour permettre de conclure à l'existence d'une association.

Ces niveaux de présomption représentent un cadre de raisonnement mais ne sont pas dogmatiques et peuvent être modulés en fonction du jugement du groupe d'experts. Par exemple, s'il existe une méta-analyse mais avec un nombre insuffisant d'études ou avec des études hétérogènes, le groupe d'experts se réserve la possibilité de lui accorder peu de poids dans l'évaluation de la présomption du lien. Inversement, une étude cas-témoins rigoureuse reposant sur une très bonne caractérisation de l'exposition peut être considérée comme plus informative et plus robuste que plusieurs études de cohorte de qualité moyenne où la caractérisation de l'exposition reposerait sur un questionnaire.

De plus, un grand nombre de résultats associant la survenue d'une pathologie à l'exposition professionnelle à une substance active est issu de la cohorte américaine *Agricultural Health Study* (AHS), ce qui lui donne un poids important dans l'évaluation du niveau de présomption du lien pour de nombreuses substances actives. Il s'agit d'une étude clé sur le sujet compte tenu de son schéma prospectif et de sa taille. Toutefois, comme toute étude, elle comporte certaines limites : *i*) les 50 pesticides analysés (essentiellement des insecticides ou des herbicides) reflètent les spécificités agricoles de l'Iowa et de la Caroline du Nord (principalement des grandes cultures et des élevages) ; *ii*) les personnes exposées aux pesticides sont essentiellement des hommes agriculteurs blancs dont les tâches majeures associées à l'exposition sont les traitements (absence de prise en compte des contacts indirects avec les substances notamment lors de tâches de ré-entrée dans les cultures) ; *iii*) l'identification des pesticides utilisés se fait uniquement par déclaration personnelle (questionnaires avec les noms des matières actives avec des exemples indicatifs de noms de spécialités commerciales). Les résultats apportés par cette cohorte sont donc pondérés en fonction de la qualité et du nombre d'études disponibles et des spécificités liées à la pathologie étudiée, les limites évoquées pouvant avoir plus ou moins d'importance.

Les données toxicologiques issues de la littérature scientifique sont analysées pour évaluer la plausibilité biologique d'un lien entre l'exposition à une substance active et la survenue de la pathologie mais également pour alerter sur des effets non observés ou non recherchés en épidémiologie. Ces données sont issues des domaines de la biochimie, de la biologie cellulaire, de la génétique, de l'histologie et de la physiologie qui utilisent des modèles *in silico*, *in vitro* et *in vivo* (modélisation moléculaire, lignées cellulaires et de tissus, expérimentation animale). Ont été prises en compte *i*) la pertinence des modèles expérimentaux, *ii*) les doses d'exposition des produits phytopharmaceutiques et biocides et *iii*) la cohérence des résultats sur les mécanismes explicatifs des effets toxiques. Un des objectifs de cette démarche consiste à rechercher des voies d'effets indésirables (AOP – *adverse outcome pathway*) pour un agent chimique, c'est-à-dire décrire une séquence logique d'évènements liés de façon causale à différents niveaux d'organisation biologique provoqués par l'exposition à cet agent et qui conduit à un effet néfaste sur la santé des humains ou de la faune.

Cette expertise commence par une analyse sociologique de la montée des préoccupations concernant les pesticides et la présentation des connaissances sur l'exposition aux pesticides de la population française. Ensuite, l'analyse est structurée en quatre parties. La première partie comprend l'exploration du lien entre l'exposition aux pesticides et la survenue de troubles du développement neuropsychologique et moteur de l'enfant, et une section sur des pathologies neurologiques de l'adulte comprenant les troubles cognitifs, les troubles anxio-dépressifs et des pathologies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson et sclérose latérale amyotrophique). La deuxième partie aborde les pathologies cancéreuses de l'enfant et de l'adulte, et fait un focus sur le chlordécone dans le cas du cancer de la prostate. La troisième partie est consacrée aux autres évènements de santé analysés pour la première fois dans cette expertise (la santé respiratoire, les pathologies thyroïdiennes et l'endométriose). Enfin, la quatrième partie est consacrée à une substance et à une famille de substances particulières : le glyphosate et les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase ou SDHi.

Ce document présente les différents chapitres qui s'appuient sur l'analyse de la littérature effectuée par les experts dans chacune de leurs disciplines à partir de la bibliographie qui a été mise à leur disposition. L'apport complémentaire d'intervenants extérieurs venus présenter leurs travaux apparaît sous la forme de communications en fin d'ouvrage[5]. L'analyse est précédée d'une synthèse élaborée et validée collectivement par le groupe d'experts.

5. Les analyses et points de vue exprimés dans les communications n'engagent que leurs auteurs.

Dans la synthèse, les résultats sont résumés dans des tableaux où les zones grisées indiquent les données nouvelles par rapport aux données de l'expertise 2013. Pour plus de concision, les tableaux par familles ou substances actives ne présentent, sauf exception, que les substances ayant un niveau de présomption fort ou moyen. Les familles ou substances avec un niveau de présomption faible sont mentionnées dans le texte. Le terme « sans distinction » signifie que dans les études, il n'a pas été possible de distinguer les familles de pesticides ou les substances actives impliquées.

Synthèse

Synthèse

Montée des préoccupations relatives aux effets des pesticides sur la santé

Les pesticides, un terme générique dérivé du latin « *pestis* » (fléau) et « *caedere* » (tuer), sont largement utilisés en agriculture afin d'améliorer les rendements, la qualité et l'aspect des produits en détruisant des organismes jugés nuisibles tels que des insectes, des champignons ou des plantes adventices[6].

Si des inquiétudes relatives aux effets des pesticides sur la santé humaine sont documentées de longue date par des travaux historiques, les conflits politiques relatifs à ces enjeux ont pris une acuité sans précédent dans notre pays. Ces conflits sont alimentés à la fois par des mobilisations protestataires et par la concurrence entre administrations pour le contrôle des politiques publiques dédiées à la protection des populations exposées à ces produits.

Ces mobilisations françaises sont d'abord apparues dans le champ de la santé au travail. La transformation de cas isolés de travailleurs malades en une cause commune d'agriculteurs s'estimant victimes des pesticides a été rendue possible par l'appui qu'ils ont reçu auprès de leurs familles, de militants environnementalistes et de professionnels du droit, qui les ont aidés à fonder l'association Phyto-Victimes en 2011. Aujourd'hui, plusieurs associations dénoncent les dangers des pesticides sur la santé des travailleurs agricoles ou des salariés de l'agro-alimentaire en exigeant une réparation du tort subi, et en exigeant un plus strict contrôle de ces produits. L'émergence de cet enjeu de revendication est le produit de plusieurs dynamiques sociologiques et politiques conjointes, en particulier la perte d'influence des syndicats agricoles historiques et du modèle productiviste agricole, et les mutations des familles d'agriculteurs où circule de plus en plus une parole critique sur les pesticides. Parallèlement, des groupes de riverains se sont également constitués dans les zones d'arboriculture et de viticulture pour exiger la limitation des épandages à proximité de leurs lieux de résidence. Ces divers mouvements sociaux sont

6. La présentation du classement et des différentes familles chimiques de pesticides (insecticides, fongicides, herbicides, organochlorés, organophosphorés, thiocarbamates, pyréthrinoïdes...) ne sera pas reprise dans ce document et les lecteurs sont invités à se reporter à la synthèse ou au chapitre 1 « Notions générales sur les pesticides et sur leurs utilisations en France » de l'expertise collective « Pesticides : Effets sur la santé » de 2013.

connectés à ceux qui militent en faveur de l'alimentation biologique et dénoncent les dangers des pesticides de synthèse.

L'ensemble de ces mutations sociales, économiques et politiques des zones rurales et agricoles a contribué à rendre visibles les effets des pesticides sur la santé, au-delà des seules publications scientifiques en épidémiologie ou en toxicologie. Les mouvements sociaux qu'elles ont alimentés ont été largement couverts par les médias d'information généralistes, en particulier à l'occasion d'affaires judiciaires qui permettent aux journalistes de mettre en récit des enjeux médicaux complexes, en se focalisant par exemple sur l'opposition entre les populations exposées aux pesticides et les firmes qui mettent ces produits sur le marché. De manière plus générale, les mobilisations d'agriculteurs et de riverains dénonçant les dangers des pesticides ont eu pour effet d'inscrire durablement cette problématique dans l'agenda politique, et d'en faire un sujet central des discussions relatives à l'avenir des filières agricoles, comme l'ont montré les états généraux de l'alimentation en 2017.

Dans ce contexte, un nombre croissant d'institutions publiques se sont saisies de cet enjeu, bien au-delà des acteurs administratifs du monde agricole qui en ont eu historiquement la charge. Le contrôle administratif de ces produits a longtemps été principalement exercé par les institutions agricoles mais cette situation a considérablement évolué, et des institutions extérieures au champ de l'agriculture, telles que l'Agence française de sécurité sanitaire de l'alimentation (Afssa), qui a fusionné avec l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset), et qui est devenue ensuite l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), ont pris une place de plus en plus importante dans ce secteur d'action publique. De manière générale, la période contemporaine constitue, pour les pouvoirs publics, un moment de profondes interrogations sur la manière dont les risques des pesticides sont évalués et gérés.

L'accumulation de données scientifiques probantes sur les liens entre pesticides et santé humaine exacerbent les conflits sociaux et politiques autour des pesticides et des modalités de leur contrôle. En effet, les données scientifiques produites au cours des dernières années (articles publiés dans des revues scientifiques, études menées par les industriels ou par des organismes de recherche sous contrat mandatés par les industriels…) sur les liens entre pesticides et santé apparaissent souvent contradictoires et ne permettent pas de déterminer des moyens d'action simples pour résoudre les éventuels problèmes identifiés.

L'évaluation réglementaire des risques des pesticides repose principalement sur des données de toxicologie expérimentale. Ces données visent à établir

pour chaque substance active une dose acceptable d'exposition humaine, et à déterminer les conditions d'utilisation permettant un usage contrôlé des préparations commerciales qui les contiennent. Les modalités de cette évaluation des risques ont évolué au fil du temps vers une codification toujours plus précise. Celle-ci est le produit d'une histoire transnationale dans laquelle se mêlent la science, la politique et l'économie. Les discussions conduites au sein de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) ont conduit à l'adoption de lignes directrices définissant les modalités devant être suivies pour produire des données de toxicité recevables en vue d'évaluer les risques des pesticides préalablement à leur mise sur le marché. À cette harmonisation internationale s'est ajouté un effort d'harmonisation au sein de l'Union européenne. L'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa), qui évalue les risques des substances actives par voie alimentaire, a ainsi défini un ensemble de lignes directrices s'imposant à l'ensemble des États membres, même si ceux-ci conservent une marge de manœuvre en matière d'évaluation des risques des préparations commerciales. Cette évaluation réglementaire des risques a permis de produire, de façon systématique, de nombreuses données de toxicité pour l'ensemble des pesticides commercialisés. Pour autant, elle a été soumise, depuis quelques années, à de nombreuses critiques. Certaines d'entre elles, portées notamment par des mouvements sociaux environnementalistes, dénoncent son opacité et une interprétation trop extensive du secret commercial. D'autres mettent en avant le poids des industriels du secteur et de certaines sociétés savantes qu'ils financent dans les négociations préalables à l'adoption des lignes directrices et le biais qui peut en découler en leur faveur. Par ailleurs, les données de toxicité produites par les industriels dans le cadre de l'évaluation des risques permettent surtout d'objectiver les effets d'exposition aux pesticides pris individuellement, et sont insuffisantes pour évaluer les effets d'expositions diffuses et simultanées à une multiplicité de produits. De même, certains facteurs comme les effets transgénérationnels ou le dimorphisme sexuel, apparaissent peu ou mal pris en considération dans l'évaluation des risques des pesticides. De manière générale, plusieurs travaux de sciences sociales soulignent le risque d'une séparation croissante entre la toxicologie « réglementaire », encadrée par les lignes directrices de l'OCDE ou des agences d'évaluation des risques des pesticides, d'une part, et la recherche académique en toxicologie.

À l'instar de ce qui s'est développé dans d'autres domaines, une autre source de connaissances relatives aux effets des pesticides sur la santé humaine est apparue : les études épidémiologiques qui utilisent une approche observationnelle des populations et des outils statistiques permettant d'identifier des facteurs de risque pour la santé humaine.

Les publications issues de ces recherches ont constitué un important signal d'alarme sur les risques liés à l'exposition aux pesticides. Elles ont, en particulier, montré une sur-incidence de la maladie de Parkinson, de certaines hémopathies malignes, et du cancer de la prostate parmi les populations de travailleurs agricoles exposés aux pesticides. Cependant, ces données épidémiologiques restent faiblement prises en compte dans les procédures réglementaires d'évaluation des risques des pesticides, les agences en ayant la charge mettant souvent en avant leurs limites méthodologiques. Afin d'obtenir des données d'exposition plus précises et/ou moins biaisées et des résultats plus robustes, des épidémiologistes ont développé, en absence de données structurées et organisées sur les usages réels des pesticides, des matrices culture-exposition permettant d'établir, pour chaque culture, une probabilité, une fréquence et une intensité de l'exposition à chaque pesticide, ainsi que des outils de dosimétrie active ou passive. Ils ont mis en place des enquêtes prospectives de cohorte qui permettent un suivi sur un temps long des populations exposées. Si ces innovations ouvrent la perspective de données épidémiologiques plus facilement interprétables, il reste que les données actuellement disponibles soulèvent de nombreuses questions sans pouvoir toujours apporter de réponse définitive.

Cette littérature a nourri une montée des préoccupations relatives aux effets des pesticides sur la santé des populations, et la saisine qui est à l'origine de cette expertise collective se trouve à la confluence de l'ensemble de ces éléments.

Exposition aux pesticides de la population française

Les données disponibles sur la contamination environnementale font état de la présence généralisée de pesticides ou de leurs métabolites et produits de dégradation sur le territoire. Les sources de contamination sont multiples : traitement des cultures, des animaux ou des bâtiments d'élevage ou de stockage dans le secteur agricole qui est le principal consommateur de pesticides en France (90 % des quantités vendues), leur utilisation non agricole dans le cadre de l'entretien des infrastructures de transport (routes, chemins de fer, aéroports…), les usages domestiques (antiparasitaires, lutte contre les insectes…), le traitement des bois… Des mesures récentes visant à réduire certaines sources ont été prises avec l'interdiction de l'utilisation des pesticides de synthèse pour l'entretien des espaces publics en 2017 (parcs, espaces verts…), et par les particuliers en 2019.

Contamination des environnements extérieurs

En 2017, des pesticides sont retrouvés dans 80 % des masses d'eaux souterraines, avec environ un quart d'entre elles dépassant le seuil réglementaire de 0,5 µg/l pour la somme des pesticides et de leurs métabolites détectés et quantifiés. Parmi les près de 300 substances recensées, la moitié sont des herbicides et 40 % sont des substances actuellement interdites. La contamination des eaux de surface est également généralisée avec, entre 2015 et 2017, 84 % des points de mesures dépassant au moins une fois le seuil de 0,1 µg/l pour la concentration de chaque pesticide pris isolément. Les dépassements réguliers concernent plus d'un quart des points de mesure nationaux. Pour ce qui concerne les milieux marins, alors que les niveaux de pesticides organochlorés ont été nettement réduits récemment, la contamination par le chlordécone aux Antilles françaises demeure un sujet de préoccupation.

La contamination de l'air extérieur est relativement bien documentée, mais comme pour pratiquement tous les autres pays, il n'existe pas de valeurs réglementaires pour ce milieu. La base PhytAtmo, regroupant les données de 2002 à 2017, montre qu'entre 40 et 90 substances actives sont détectées annuellement, dans les zones rurales ou urbaines, à des concentrations variables. Une campagne exploratoire nationale en 2018 a analysé 75 pesticides dans des échantillons d'air prélevés sur 50 sites. Les substances les plus fréquemment détectées sont plusieurs herbicides (glyphosate, prosulfocarbe, S-métolachlore, pendiméthaline et triallate), des insecticides (chlorpyrifos-méthyl et lindane), et des fongicides (chlorothalonil et folpel). L'étude a permis de prioriser des analyses approfondies sur le lindane (détecté dans près de 80 % des échantillons), et la surveillance systématique de 32 substances, dont 9 interdites.

Les sols sont également concernés, mais en l'absence de surveillance réglementaire, les données sont parcellaires. Des niveaux localement élevés de lindane et d'atrazine ont été mis en évidence dans le Nord en 2008, et une étude récente menée dans les Deux-Sèvres montre la présence de l'herbicide diflufénican, de l'insecticide imidaclopride, et des fongicides boscalide et époxiconazole dans plus de 80 % des échantillons de sols de prairies et de cultures de céréales.

Des efforts de structuration et d'organisation des données sur la contamination des environnements ont été déployés par des organismes et réseaux nationaux ces dernières années. Ces efforts restent nécessaires et doivent être soutenus pour assurer l'exhaustivité et la représentativité géographique et temporelle de ces données.

Contamination de la chaîne alimentaire

Les denrées alimentaires sont encadrées par des dispositifs de réglementation et de surveillance fixant, entre autres, les limites maximales de résidus (LMR) de pesticides. En 2016, une analyse par l'Efsa de près de 7 000 échantillons d'aliments sur le marché français (la moitié d'origine française) montre que 6,4 % sont non conformes, dépassant la LMR pour au moins un pesticide. Selon les connaissances scientifiques actuelles, l'agence a conclu que *i*) pour une exposition aiguë aux pesticides, la probabilité d'être exposé à des résidus de pesticides dépassant des concentrations susceptibles d'entraîner des effets négatifs sur la santé est faible et que *ii*) l'exposition alimentaire à long terme aux pesticides surveillés était peu susceptible de présenter un risque pour la santé des consommateurs. Il faut cependant noter que les études scientifiques sur l'exposition chronique et les effets à long terme sont peu nombreuses et particulièrement complexes à réaliser. En France, les études de l'alimentation totale (EAT) ont analysé les aliments du marché français et « tels que consommés ». Dans le cadre de l'EAT2 en 2011, une analyse d'environ 300 pesticides dans plus de 1 200 échantillons montre que 37 % présentent au moins un résidu détecté. Cependant, un seul scénario d'exposition (au diméthoate dans le cas d'une consommation importante de cerises) présente un risque de dépassement de la dose journalière admissible. L'EAT infantile (EATi) présente en 2016 une analyse des produits destinés à l'alimentation des enfants. Parmi les 309 échantillons analysés pour 469 substances, 67 % présentent au moins un résidu détecté mais une évaluation de risque n'identifie aucun pesticide en particulier. Bien que les risques potentiels liés à l'alimentation semblent maîtrisés selon l'état des connaissances actuelles, les analyses sur lesquelles les évaluations se fondent ne prennent pas en compte l'impact des mélanges de pesticides (« effets cocktails »). Il existe donc un besoin d'acquisition de données et de modèles intégratifs pour mieux refléter la complexité des expositions.

Contamination des environnements intérieurs

Les usages domestiques des pesticides peuvent entraîner une exposition directe des personnes occupant le domicile lors de l'utilisation, et la contamination de l'environnement intérieur puisque les substances peuvent subsister dans l'air et les poussières. Longtemps négligée, la contribution de cette source d'exposition apparaît pourtant importante pour la population française. L'usage des pesticides par les particuliers a été examiné dans l'étude Pesti'home, qui montre que 75 % des ménages rapportent avoir utilisé des pesticides au cours de l'année précédente, dont notamment des insecticides

pyréthrinoïdes (perméthrine, cyperméthrine et tétraméthrine). Les foyers dans lesquels ils sont utilisés le plus fréquemment sont aussi souvent ceux où leur nombre est important, et dans plus d'un quart des foyers au moins un produit interdit est stocké. Ces constats devraient inciter à plus de vigilance et à diffuser l'information auprès du grand public quant à l'usage et au stockage de ces produits.

La contamination des environnements intérieurs est majoritairement le résultat des usages directs de pesticides dans le lieu de vie, de l'émanation des substances à partir des matériaux traités et de la contamination de l'air extérieur. Des études menées par deux observatoires nationaux dans les années 2000 font état d'une contamination de l'air intérieur par des pesticides. Les substances les plus présentes sont la perméthrine, le lindane et dans une moindre mesure d'autres organochlorés (DDT/DDE, α-endosulfan), et des organophosphorés (chlorpyrifos, diazinon, fenthion). La contamination des environnements intérieurs a également été étudiée via les poussières. Une étude dans des écoles (entre 2013 et 2017), ou dans des logements accueillant des enfants (entre 2008 et 2009) montre la présence de nombreux pesticides (perméthrine, lindane, DDE, cyperméthrine et chlorpyrifos), avec des profils qui sont cohérents avec ceux retrouvés dans l'air.

Contamination des lieux de vie et proximité des zones agricoles

De nombreuses questions existent sur le niveau d'exposition aux pesticides et les risques potentiels encourus par les populations riveraines des zones agricoles. Une vingtaine d'études se sont intéressées à ces questions utilisant soit des mesures des pesticides dans différentes matrices (air, sols, urines), soit en considérant la proximité aux zones agricoles comme un proxy de l'exposition.

Trois études françaises ont mesuré les pesticides agricoles dans les poussières domestiques ou les urines des populations riveraines. De nombreux pesticides d'origine agricole sont détectés, mais ces études ne permettent cependant pas de conclure quant à une contribution importante de l'activité agricole voisine à l'exposition, probablement en raison d'un manque de précision temporelle. Des études nord-américaines sur cette question présentant, elles aussi, des limites méthodologiques ont conduit à des résultats peu concordants, avec la moitié d'entre elles ne trouvant pas de corrélation entre la distance aux cultures et les concentrations en pesticides dans les poussières des habitations.

D'autres études ont utilisé une méthodologie intégrant à la fois des données spatiales et temporelles afin de caractériser plus précisément les expositions. Ainsi, au Royaume-Uni, une étude n'a pas trouvé d'augmentation des concentrations urinaires de pesticides chez les personnes habitant à moins de 100 m des parcelles dans les 2 jours après les traitements. Une étude en Wallonie a montré une diminution des dépôts de pesticides dans les sols en fonction du temps et de la distance aux zones traitées. Enfin, dans une étude sur les populations riveraines des champs de fleurs aux Pays-Bas, les concentrations en pesticides sont plus importantes à moins de 250 m des parcelles qu'à plus de 500 m, surtout à l'extérieur des habitations mais également à l'intérieur, et de façon plus marquée pendant les périodes d'application. Il existe donc des données, bien que limitées, qui suggèrent une influence de la proximité aux zones agricoles sur la contamination par les pesticides du lieu de vie. Cette influence est cependant variable selon les substances, leur mode d'application et les matrices environnementales ou biologiques considérées pour estimer l'exposition.

Dans les recherches existantes en lien avec la santé humaine, les études s'appuient sur une approche considérant la proximité des lieux de vie aux zones agricoles comme un proxy de l'exposition. Il s'agit principalement d'études « écologiques » visant à corréler un effet de santé mesuré dans des unités géographiques avec des indicateurs d'activité agricole définis pour ces mêmes unités (densité de fermes, surface en cultures, quantité de pesticides utilisés...) et d'études cas-témoins s'appuyant sur la caractérisation de l'activité agricole au voisinage des adresses de résidence géolocalisées. Ces approches ont déjà été utilisées par exemple dans des études sur la maladie de Parkinson, le cancer de la vessie, et le cancer du système nerveux central, et elles sont utilisées dans deux études françaises en cours : l'étude Geocap Agri sur les cancers de l'enfant, et la cohorte ELFE (Étude Longitudinale Française depuis l'Enfance). Ces types d'études présentent l'avantage de pouvoir inclure un grand nombre de participants, d'être basées sur des indicateurs d'exposition objectifs et elles sont généralement moins coûteuses que les études reposant sur des questionnaires ou des tests analytiques pour estimer l'exposition. En revanche, de par leur nature, elles présentent des limites importantes en lien avec l'évaluation de l'exposition (évolution des activités agricoles difficile à prendre en compte, historique résidentiel rarement disponible, précision du géocodage peu discuté, non prise en compte des usages de pesticides agricoles...), et l'absence de données individuelles. L'affinement de ces approches devrait permettre de progresser dans l'évaluation des expositions aux pesticides des personnes au sein même de leur domicile et l'estimation des risques pour la santé.

Biomesurage et imprégnation de la population générale française par les pesticides

La mesure de la concentration d'un pesticide ou de ses métabolites dans des matrices biologiques est souvent considérée comme une méthode de référence pour évaluer l'exposition. Les résultats informent sur la charge corporelle d'une substance en intégrant l'ensemble des voies et des sources d'exposition. On distingue les matrices internes (sang, tissu adipeux...) des matrices externes (urines, fèces...). Les matrices internes présentent un intérêt pour le dosage des composés persistants avec une demi-vie de plusieurs semaines à plusieurs années. Cependant, leur utilité pour caractériser des expositions passées est limitée à quelques années ou mois précédant le prélèvement. S'agissant des matrices externes, l'urine est la plus souvent utilisée, surtout pour le dosage des composés avec une demi-vie de plusieurs jours à quelques heures, mais pour interpréter les résultats il faut tenir compte de la diurèse et la cinétique d'élimination. Il existe un intérêt croissant pour des matrices externes alternatives. Les cheveux sont intéressants car leur croissance permet également d'estimer la ou les périodes d'exposition, mais l'interprétation des résultats est délicate car les processus toxicocinétiques conditionnant l'accumulation sont peu connus. Le méconium (les premières selles du nouveau-né) suscite un grand intérêt pour examiner l'exposition fœtale aux substances, mais il est confronté à ces mêmes difficultés. Grâce aux développements en chimie analytique, un grand nombre de substances peuvent être identifiées et quantifiées. Toutefois, la pertinence du choix de la matrice et des substances à y mesurer offre encore un champ d'investigation important, incluant l'identification des métabolites encore inconnus.

Les études s'intéressant à l'imprégnation de la population générale constatent une exposition répandue à de multiples pesticides[7]. Certaines de ces études sont d'envergure nationale mais jusqu'à présent limitées à quelques familles chimiques. Le volet environnemental de l'Étude nationale nutrition santé en 2006-2007 montre des niveaux d'organochlorés comparables à ceux observés à l'étranger, alors que pour les pyréthrinoïdes et, dans une moindre mesure, les organophosphorés, les niveaux sont plus élevés qu'aux États-Unis ou en Allemagne. De même, les études sur la cohorte nationale ELFE confirment la présence généralisée en 2011 des pyréthrinoïdes et montrent une exposition faible ou absente aux organophosphorés et aux triazines. Les premiers résultats de l'étude ESTEBAN, portant sur plus de 3 500 adultes et enfants, sont attendus en 2021 et enrichiront les connaissances dans ce domaine.

7. L'estimation des niveaux de contamination des professionnels et les méthodes et outils de mesure de l'exposition professionnelle sont décrits en détail dans l'expertise de 2013 et ne seront pas ré-abordés ici.

Il existe aussi des études académiques, réalisées au niveau régional, qui sont à la fois plus complètes en termes de couverture de pesticides mais plus exploratoires compte tenu d'incertitudes liées aux matrices biologiques choisies. Trois études sur la cohorte mère-enfant PELAGIE montrent la présence ubiquitaire d'organophosphorés et de pyréthrinoïdes chez les participants, ainsi que la présence des triazines chez environ 30 % des mères. Une étude sur des prélèvements de méconium collectés d'une cinquantaine de nouveau-nés sains montre la présence de chlorpyrifos, diazinon, propoxur et isoproturon dans la majorité des échantillons. Enfin, une analyse des mèches de cheveux dans une sous-cohorte de l'étude ELFE a détecté 122 substances au moins une fois et un minimum de 25 substances dans chaque échantillon. Les pesticides les plus présents sont des pyréthrinoïdes et des organophosphorés, mais l'ensemble des 18 familles chimiques examinées sont retrouvées, objectivant la présence de mélanges complexes de pesticides. Il est important de rappeler que la détection d'un pesticide ou de ses métabolites dans une matrice biologique atteste très certainement d'une exposition, mais ne peut conduire à une interprétation de toxicité ou d'effet sanitaire sans l'analyse de toutes les données associées et disponibles de toxicologie et d'épidémiologie.

Pathologies neurologiques et atteintes neuropsychologiques

Cette partie présente l'analyse de la littérature scientifique publiée depuis 2013 sur le rôle des pesticides dans la survenue des pathologies neurologiques et atteintes neuropsychologiques. Elle est organisée selon les thématiques et la population concernée, et s'intéresse aux effets d'une exposition aux pesticides en période prénatale et en particulier sur le développement neuropsychologique et moteur de l'enfant. Elle aborde ensuite les pathologies neurologiques de l'adulte dont plusieurs maladies neurodégénératives (maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer et sclérose latérale amyotrophique), les troubles cognitifs et les troubles anxio-dépressifs.

Développement neuropsychologique et moteur de l'enfant

Dans l'expertise de 2013, la santé de l'enfant a été abordée en lien avec les expositions des mères pendant la grossesse en étudiant des évènements survenant à l'issue de grossesse (avortements spontanés, malformations congénitales, diminution du poids de naissance ou de la durée de gestation), des altérations fonctionnelles apparaissant après la naissance et affectant entre autres le système reproducteur, le métabolisme et la croissance, le développement psychomoteur et intellectuel et le comportement de l'enfant, ainsi que le développement de cancers chez l'enfant.

Ces recherches s'inscrivent pour certaines dans le concept des origines développementales de la santé et des maladies, qui suggère que des modifications subtiles de certains paramètres de santé, non visibles cliniquement, ayant lieu tôt dans la vie en réponse à un évènement/agent toxique, peuvent induire des dysfonctionnements plus importants ou des maladies plus tard au cours de la vie[8]. Certaines périodes dans la vie, en particulier celles de développement, telles que la grossesse, la petite enfance et le passage à la puberté, sont des fenêtres reconnues d'une plus grande vulnérabilité face à la présence d'un évènement ou agent toxique.

Le groupe d'experts a choisi de faire une mise à jour des données sur les liens entre l'exposition pré- et post-natale aux pesticides et le développement neuropsychologique et moteur de l'enfant, le comportement de l'enfant et la survenue de cancers chez l'enfant (dans la partie « pathologies cancéreuses » ci-après), car c'est dans ce domaine que les publications sont les plus nombreuses et les avancées les plus significatives.

Une attention particulière a été portée aux études s'appuyant sur des outils robustes et fiables de mesures de l'exposition et des paramètres de santé, une cohérence temporelle entre les moments de l'exposition d'intérêt et les évènements de santé, et la prise en compte de facteurs de confusion majeurs. Dans certaines études, les estimations de l'exposition reposent sur des mesures de biomarqueurs qui cumulent l'ensemble des voies d'exposition (cutanée, alimentaire, respiratoire) et des sources d'exposition (activités agricoles, professionnelles, domestiques...), sans distinction. Pour les études s'intéressant au développement neuropsychologique et moteur et au comportement de l'enfant, il s'agira souvent de suivis longitudinaux de femmes enceintes et de leurs enfants, appelés cohortes mères-enfants, qui sont indispensables pour cette recherche, mais elles sont rares compte tenu du coût et du temps nécessaire à investir.

Le cerveau en développement est particulièrement sensible à l'exposition à des agents toxiques. Pour certains toxiques comme le plomb et le mercure, de nombreuses études indiquent que les conséquences sur le développement neuropsychologique et moteur des expositions pendant la grossesse ne se limitent pas à celles visibles à la naissance mais peuvent être plus subtiles et révélées dans l'enfance. Ces moindres performances, déficits sensoriels, retards ou troubles de l'apprentissage à l'âge scolaire constituent un handicap possible pour l'individu et des conséquences pour la société dans son ensemble.

8. Charles MA, Delpierre C, Bréant B. Le concept des origines développementales de la santé : Évolution sur trois décennies. *Med/Sci* 2016 ; 32 : 15-20.

Exposition aux insecticides organophosphorés

Il existe à ce jour un grand nombre d'études utilisant des biomarqueurs d'exposition qui se sont intéressées au rôle de l'exposition aux insecticides organophosphorés pendant la grossesse sur le développement neuropsychologique de l'enfant. Les premières cohortes de suivi de femmes pendant la grossesse et de leurs enfants ont été décrites dans l'expertise précédente de 2013 ; ces cohortes ont été conduites aux États-Unis dans des minorités ethniques ou des populations à faibles revenus et ont montré des déficits cognitifs jusqu'à l'âge de 7 ans en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés.

Depuis, ces observations n'ont pas été retrouvées, ni à des âges ultérieurs dans ces mêmes cohortes, ni par deux des quatre études plus récentes, européennes ou nord-américaines. Néanmoins, la diminution des performances cognitives des enfants d'âge scolaire et des altérations du développement psychomoteur et de l'acuité visuelle chez le jeune enfant ont été observées par les cohortes récentes qui présentaient les niveaux d'exposition parmi les plus élevés de la littérature, pour la majorité des études asiatiques et une étude européenne.

Si la variabilité des niveaux d'exposition peut expliquer une partie des différences entre les études, plusieurs hypothèses peuvent éclairer l'apparente incohérence des résultats : *i*) une réversibilité possible des effets par des mécanismes de compensation acquis avec l'âge ou par des stimulations cognitives reçues au cours de la vie par l'enfant/l'adolescent ; *ii*) l'existence d'une vulnérabilité sociale et/ou ethnique face à ces expositions ; *iii*) la diminution de l'usage des insecticides organophosphorés ces deux dernières décennies et *iv*) une variation des sources d'exposition et/ou les combinaisons (mélanges) d'insecticides organophosphorés présents dans les produits agricoles et domestiques.

Deux études de cohorte, en poursuivant le suivi des enfants jusqu'à l'âge de 14 ans, confirment une atteinte possible des capacités sociales des enfants avec des comportements évocateurs du spectre autistique, observée jusqu'à l'adolescence, en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés.

Les modèles animaux et mécanistiques étudiant la neurotoxicité d'insecticides organophosphorés avaient été abordés dans l'expertise précédente de 2013 (voir chapitre « Mécanismes d'action neurotoxique des pesticides ») et confirmaient la plausibilité biologique d'une neurotoxicité développementale, en particulier pour le chlorpyrifos, un organophosphoré.

Pour le chlorpyrifos, une cohorte asiatique n'observe pas d'effet sur le développement psychomoteur d'enfants de 3 ans tandis qu'une des cohortes américaines confirme un lien avec les performances motrices fines des enfants de 9-13 ans. En revanche, il n'existe pas de nouvelles études publiées à ce jour chez l'être humain renforçant le lien suggéré par la précédente expertise de 2013 spécifiquement pour le malathion et le méthyl-parathion (famille des organophosphorés) ainsi que le propoxur (famille des carbamates).

Exposition aux insecticides pyréthrinoïdes

La littérature épidémiologique s'intéressant au rôle des insecticides pyréthrinoïdes sur le développement neuropsychologique et moteur des enfants est récente et fait suite à l'augmentation de leur usage en substitution aux insecticides organophosphorés. Ces études sont également pour la plupart des cohortes de femmes suivies pendant la grossesse et de leurs enfants, et utilisent des biomarqueurs urinaires pour la mesure de l'exposition. Une concordance de résultats entre les études, quel que soit le contexte, est observée et suggère une augmentation des troubles du comportement de l'enfant, en particulier de type internalisé (par exemple : anxiété) en lien avec l'exposition prénatale aux pyréthrinoïdes. Concernant son rôle sur une diminution des capacités cognitives des enfants, les résultats sont moins convaincants. Aucune molécule spécifique n'a pu être identifiée dans cette littérature.

Un lien entre l'exposition aux insecticides pyréthrinoïdes pendant l'enfance et une augmentation des troubles du comportement de l'enfant dit externalisé (par exemple : déficit d'attention avec/sans hyperactivité, agressivité) a été observé par plusieurs études transversales pour lesquelles cependant les conclusions concernant une causalité possible de l'association sont limitées.

Si plusieurs études toxicologiques démontrent effectivement un impact des molécules pyréthrinoïdes sur les canaux sodiques voltage-dépendants, ciblés chez les insectes, de nombreux autres modes d'action pertinents ont aussi été identifiés : un dysfonctionnement de plusieurs types de canaux calciques ou une augmentation d'expression du transporteur de la dopamine. Ces mécanismes ont été observés à de faibles doses utilisées *in vivo* ou *in vitro* et en lien avec un impact sur le comportement animal. Des études animales menées à différents stades de développement montrent que l'imprégnation cérébrale en deltaméthrine est inversement proportionnelle à l'âge, suggérant que la plus grande sensibilité aux insecticides pyréthrinoïdes chez les plus jeunes organismes pourrait être expliquée par une barrière hémato-encéphalique hyperperméable. La littérature toxicologique depuis 2013 rapporte d'autres mécanismes d'action originaux (ciblage des protéines au protéasome,

modifications épigénétiques), ainsi que des éléments sur d'éventuels effets synergiques de pyréthrinoïdes, qui pourraient expliquer l'action de ces molécules souvent utilisées en mélange, et qui sont des pistes de recherche à développer. Finalement, l'ensemble des données sur les mécanismes d'action apporte des arguments en faveur du rôle de l'exposition prénatale aux insecticides pyréthrinoïdes dans le développement de troubles neuropsychologiques et moteurs chez l'enfant.

Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque d'altération du développement neuropsychologique et moteur* de l'enfant : résultats des études avec biomarqueurs chez les femmes enceintes

Exposition pendant la grossesse	Atteintes observées chez l'enfant	Présomption d'un lien
Organophosphorés		
Sans distinction	Altération des capacités motrices, cognitives et des fonctions sensorielles	++
	Comportement évocateur des troubles du spectre autistique	+ [a]
Chlorpyrifos	Altération des capacités motrices et cognitives	+ [b] Interaction avec *PON1*
Malathion Méthyl-parathion	Altération des capacités motrices et cognitives	+ [c] Interaction avec *PON1*
Carbamates/ Thiocarbamates		
Propoxur	Altération des capacités motrices et cognitives	+ [c]
Pyréthrinoïdes		
Sans distinction	Troubles du comportement de type internalisé tels que l'anxiété	++
	Altération des capacités motrices et cognitives	±
Organochlorés**		
Chlordécone	Altération de la motricité fine	+ [d]

++ d'après les résultats de dix-huit cohortes pour les organophosphorés, renforce les résultats de 2013 ; d'après les résultats de trois cohortes pour les pyréthrinoïdes Données nouvelles
+ [a] d'après les résultats de deux cohortes Données nouvelles ; + [b] d'après les résultats de deux cohortes supplémentaires par rapport à 2013 ; + [c] aucune étude nouvelle depuis 2013 ; + [d] d'après les résultats d'une cohorte, résultats de 2013
± d'après les résultats de cinq études (positives et négatives) Données nouvelles
* comprend le développement psychomoteur et mental, les performances cognitives et le comportement
** La littérature scientifique concernant les autres organochlorés n'a pas été réexaminée.
PON1 : paraoxonase 1.

Exposition résidentielle aux pesticides

L'exposition de la population générale aux pesticides par les usages agricoles à proximité des lieux de vie des populations est particulièrement difficile à évaluer. Plusieurs études ont utilisé le géocodage des lieux de résidence pendant la grossesse ou l'enfance pour estimer les distances par rapport à un

usage agricole ou l'intensité des usages agricoles environnants. Elles ont rapporté des déficits intellectuels et un risque plus élevé de présence de troubles du spectre autistique chez les enfants en lien avec la proximité résidentielle (< 1,5 km) aux activités agricoles. En particulier, ont été incriminées les familles des organophosphorés, des pyréthrinoïdes et des carbamates, en cohérence avec les études utilisant des biomarqueurs d'exposition. Concernant l'usage domestique pendant la grossesse de produits pour lutter contre des insectes ou autres nuisibles, le niveau de preuve d'une atteinte possible sur le développement neuropsychologique et moteur de l'enfant reste faible.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et développement neuropsychologique et moteur de l'enfant : résultats des études sans biomarqueurs chez les femmes enceintes

Exposition pendant la grossesse	Atteintes observées chez l'enfant	Présomption d'un lien
Exposition non professionnelle (usage domestique, proximité résidentielle aux zones d'épandage agricole)	Altération des capacités motrices et cognitives	+
	Comportement évocateur des troubles du spectre autistique	± [a]
Exposition professionnelle aux pesticides (sans distinction)	Altération des capacités motrices et cognitives	± [b]

+ d'après les résultats de deux cohortes et une étude cas-témoins (mais mesure de l'exposition insuffisante) Données nouvelles
± [a] d'après les résultats d'une étude cas-témoins Données nouvelles ; ± [b] d'après les résultats de deux études transversales, résultats de 2013

Enfin, il est à noter que peu d'études se sont intéressées au lien entre l'exposition professionnelle des mères et le développement psychomoteur, intellectuel et le comportement des enfants en France ou ailleurs. Cette littérature n'a ainsi pas pu être mise à jour dans cette nouvelle expertise.

Troubles cognitifs chez l'adulte

La cognition est un processus cérébral complexe impliquant notamment la mémoire, l'attention, le jugement, la compréhension et le raisonnement. Certains agents environnementaux peuvent perturber la cognition, probablement en interférant avec les neuromédiateurs. L'impact potentiel des pesticides sur la cognition a été évoqué en raison de l'identification clinique d'altérations chroniques des fonctions cognitives suite à des intoxications aiguës par des insecticides organophosphorés. Ces constatations ont été suivies d'études d'observation qui ont mis en évidence des manifestations neurologiques chroniques à distance d'intoxications aiguës, telles qu'une diminution des performances à divers tests (attention visuelle, mémoire, abstraction...). Par la suite, d'autres études ont porté sur les effets retardés d'expositions chroniques, en l'absence d'intoxication aiguë, le plus souvent

chez des utilisateurs d'organophosphorés mais également d'organochlorés ou de pyréthrinoïdes.

L'expertise collective de 2013 avait identifié une quarantaine d'études épidémiologiques portant sur l'impact des expositions aux pesticides sur la cognition, la plupart transversales, mais également quatre cohortes prospectives. Une quinzaine d'études originales ainsi que deux méta-analyses ont été publiées depuis.

Trois études (en Éthiopie, en Chine et l'*Agricultural Health Study* aux États-Unis), menées sur des travailleurs agricoles, ont apporté de nouvelles données sur l'effet des intoxications aiguës aux pesticides sur les performances cognitives mesurées à distance de l'exposition. Même s'il était parfois compliqué de distinguer l'effet des expositions aiguës de celles des expositions chroniques chez les professionnels exposés, ces trois études renforçaient les conclusions concernant un lien entre les intoxications aiguës par des pesticides (principalement les organophosphorés) et une baisse des performances cognitives dans les domaines de l'attention visuelle, la mémoire et l'abstraction.

Concernant les effets retardés d'expositions professionnelles aux pesticides sur la cognition, huit nouvelles études transversales et quatre études de cohorte ont été publiées depuis 2013. Les études transversales ont été menées dans des pays très divers (Iran, Chine, Arabie Saoudite, Chili, Suède, États-Unis). La moitié d'entre elles a concerné uniquement des professionnels (horticulteurs, travailleurs agricoles, vétérans de la guerre du Golfe, personnes chargées de la démoustication), tandis que les autres portaient sur des riverains de cultures (vignes, agrumes), sur la population rurale (en Chine) ou sur la population générale (aux États-Unis, en Suède). Les pesticides étudiés étaient majoritairement des organophosphorés, mais également des pyréthrinoïdes et des organochlorés. Les études portant sur les effets chez les professionnels et les riverains concluaient toutes à une baisse des performances cognitives, mesurées par des tests variés. Les études en population générale montraient également des performances abaissées, à l'exception de l'étude transversale *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES, États-Unis) lorsque l'exposition était estimée à partir de biomarqueurs d'exposition (métabolites urinaires de pesticides).

Quatre nouvelles analyses prospectives ont été menées en France, aux États-Unis et en Grèce. Deux d'entre elles portaient sur des expositions professionnelles : l'une sur les travailleurs de l'industrie de production de pesticides (chlorpyrifos) aux États-Unis et l'autre chez les viticulteurs en France. L'étude menée dans l'industrie ne met en évidence aucune association entre

l'exposition des travailleurs, suivis pendant une année, et le déclin cognitif. La cohorte française (PHYTONER) analyse les résultats à des tests cognitifs après 4 années de suivi d'un millier de travailleurs viticoles, en estimant l'exposition à onze organophosphorés à l'aide d'une matrice culture-exposition et d'algorithmes basés sur des études de terrain. L'exposition cumulée était associée à une diminution des performances cognitives, en particulier pour la mémoire de travail et la vitesse de traitement, mais sans relation dose-effet. Deux autres analyses prospectives portent sur le déclin cognitif de personnes âgées résidant à proximité de zones agricoles. La première est une étude californienne de personnes de 60 ans et plus, résidant près de zones traitées par des organophosphorés, dont le déclin cognitif et la survenue de démence ont été suivis pendant 10 ans. La deuxième est une cohorte grecque de personnes de 65 ans et plus, vivant à proximité de champs traités par des pesticides. Ces deux études ont mis en évidence une baisse des performances cognitives dans ces populations âgées riveraines.

Dans l'expertise collective précédente, quatre revues et une méta-analyse avaient été identifiées qui portaient sur les effets des expositions chroniques aux pesticides sur la cognition et concluaient à un effet délétère des expositions aux pesticides, de manière plus claire en présence d'intoxication aiguë. Depuis, une revue et deux méta-analyses ont été publiées sur le lien entre troubles cognitifs et expositions chroniques aux pesticides. Toutes se sont centrées sur les effets des expositions chroniques aux organophosphorés. Les auteurs soulignent la diversité des tests réalisés et les différences dans les méthodes d'estimation des expositions entre les études. Cependant, leurs conclusions sont convergentes et confirment une augmentation de certains déficits cognitifs (attention, capacités visuo-motrices, abstraction verbale, perception), plus cohérentes dans le domaine de la mémoire et de l'attention, chez les personnes exposées aux organophosphorés. Une relation durée-effet était mise en évidence dans les analyses réalisées au niveau agrégé aussi bien qu'au niveau de l'individu.

À la quarantaine d'études identifiées lors de la précédente expertise collective, une quinzaine d'études originales sont venues s'ajouter depuis 2013, ainsi que trois revues de synthèse. Les études récentes restent majoritairement transversales et comparent les fonctions cognitives de personnes intoxiquées par des pesticides ou ayant été exposées de manière prolongée au cours de leur parcours professionnel à celles de personnes non exposées. La plupart identifient des liens entre les expositions aux pesticides et les détériorations cognitives. Les pesticides impliqués sont majoritairement les organophosphorés, mais d'autres molécules ont été explorées comme les pyréthrinoïdes ou les organochlorés, qui se sont également avérées associées à une

atteinte des fonctions cognitives. De plus, au cours des dernières années, les études se sont élargies à des populations a priori moins exposées que les agriculteurs, comme les riverains de zones agricoles ou la population générale, notamment au travers de l'étude NHANES aux États-Unis. Un effet a également été mis en évidence sur les performances cognitives dans ces populations. La dimension longitudinale de l'impact des pesticides sur les fonctions cognitives est une question importante si on considère que l'apparition de troubles cognitifs serait prédictive de la survenue de certaines démences.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et troubles cognitifs

Exposition	Populations	Présomption d'un lien
Pesticides*	Agriculteurs, avec ou sans antécédents d'intoxications aiguës	++
Pesticides (sans distinction)	Populations générales ou riverains des zones agricoles	+

* principalement insecticides organophosphorés
++ d'après les résultats d'une méta-analyse en 2013, de deux méta-analyses récentes, de trois cohortes prospectives et de nombreuses études transversales Niveau de présomption passe de moyen à fort
+ d'après les résultats de deux études transversales et deux études prospectives Données nouvelles

Troubles anxio-dépressifs

L'évaluation des troubles anxio-dépressifs au sein des populations soulève de nombreuses difficultés, la première étant de définir de manière claire et consensuelle des entités pathologiques, identifiables et dénombrables avec des outils épidémiologiques tels que des tests ou des questionnaires. Les données de prévalence des troubles anxio-dépressifs restent de ce fait débattues. Près d'une personne sur dix en France aurait vécu un épisode dépressif dans l'année précédente, de manière plus fréquente chez les femmes que chez les hommes. Le taux de prévalence national serait en hausse depuis quelques années. Par ailleurs, une étude rapporte que plus de 1,3 million de personnes ont été prises en charge pour des troubles anxieux en France entre 2010 et 2014. Les troubles anxio-dépressifs sont d'origine multifactorielle et proviennent d'une interaction complexe entre des facteurs biologiques, psychologiques et environnementaux. En raison de leur nature chronique, de comorbidités et de la stigmatisation entourant les problèmes de santé mentale, les troubles anxio-dépressifs peuvent engendrer une grande souffrance chez les personnes qui en sont atteintes, avec des répercussions importantes sur la vie professionnelle et personnelle, et un risque accru de tentatives de suicide ou de suicide. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime entre 5 et 20 % le taux de suicide des patients souffrant d'un épisode dépressif majeur. Par ailleurs, la mortalité par suicide serait favorisée en population agricole

par un accès facilité à des moyens les plus fatals (armes à feu, pendaison, intoxications par des produits chimiques).

De nombreux travaux, notamment en sociologie de la santé, menés dans différents pays ont mis en évidence des taux de dépression et de suicide plus élevés en population agricole que dans la population générale. Les particularités du mode de vie agricole, telles que l'isolement résidentiel et social et les contraintes professionnelles (fatigue physique, pression temporelle liée à des journées de travail souvent longues, aléas saisonniers et météorologiques, difficultés économiques liées aux incertitudes des prix de l'agro-alimentaire) peuvent contribuer aux troubles anxio-dépressifs.

L'hypothèse du rôle des pesticides dans l'apparition de symptômes anxio-dépressifs est sous-tendue par leur possible interférence avec les nombreux neuromédiateurs, tels que la sérotonine, qui jouent un rôle majeur dans les processus mentaux et comportementaux. Dès la fin des années 1970, plusieurs observations de toxicologie clinique ont suggéré un effet des pesticides sur l'humeur (symptômes dépressifs, troubles du sommeil, anxiété et irritabilité) chez les personnes ayant subi une intoxication aiguë, en particulier par des organophosphorés.

Depuis une trentaine d'années, des études épidémiologiques observent des effets similaires lors d'expositions professionnelles chroniques, notamment pour les insecticides organophosphorés. L'expertise collective précédente avait identifié une trentaine d'études abordant la question des troubles anxio-dépressifs en lien avec les expositions aux pesticides. Celles-ci présentaient certaines limites méthodologiques en raison d'effectifs souvent restreints, d'une hétérogénéité dans la définition des troubles, et de l'existence de facteurs de confusion d'importance, comme l'isolement social ou les difficultés économiques. Ces études convergeaient vers une plus grande fréquence de troubles anxieux et dépressifs chez les personnes exposées aux pesticides, aussi bien dans les suites d'intoxications aiguës, que pour des expositions modérées mais prolongées. Par ailleurs, plusieurs études suggéraient un lien possible avec des tentatives de suicide, sans qu'il soit réellement possible d'affirmer le rôle spécifique des pesticides. L'analyse de la littérature toxicologique évoquait l'existence d'arguments biologiques en faveur d'un effet possible de certaines substances au niveau du système nerveux central, tels que des perturbations des niveaux de la sérotonine, un neuromédiateur jouant un rôle important dans la régulation de l'humeur, expliquées par des expositions à certains pesticides, comme les organophosphorés, ou d'autres substances.

Depuis l'expertise collective de 2013, trois articles de synthèse ont fait le point sur cette question. Une revue de la littérature sur le lien entre pesticides

et dépression/suicide a été réalisée à partir d'une vingtaine d'articles sur la période 1995 à 2011, dont onze traitaient du risque de dépression et quatorze de suicides. Un lien entre les intoxications aiguës par des pesticides et la dépression était mis en évidence dans 5 études, avec des niveaux de risque allant d'un doublement à un quintuplement, alors que les études portant sur les expositions chroniques trouvaient des risques plus faibles. Le risque de suicide était augmenté dans la plupart des études mais avec des limites méthodologiques. Une autre revue, centrée sur les organophosphorés, n'a pu conclure définitivement sur leur rôle dans la survenue des troubles neuropsychiatriques. La troisième revue, à partir d'une trentaine de travaux, met en évidence le rôle des expositions à haute ou faible dose sur la santé mentale des travailleurs agricoles et souligne la nécessité de mieux caractériser à la fois les troubles de santé et les expositions.

Intoxication aiguë

Depuis la précédente expertise collective, qui dénombrait 7 études sur les troubles anxio-dépressifs pouvant survenir dans les suites d'une intoxication aiguë par des pesticides, deux études de cohorte sont venues compléter la littérature épidémiologique sur cette question. La première de ces cohortes, rétrospective, a été menée en Grande-Bretagne dans la population des éleveurs de moutons ayant utilisé des traitements insecticides (et en particulier des organophosphorés) comme antiparasitaires externes. Le risque de déclarer une dépression était multiplié par 10 chez les personnes ayant été prises en charge pour une intoxication par un pesticide mais l'association n'était pas retrouvée chez les personnes ayant manipulé ces substances sans avoir subi d'intoxication. La seconde cohorte, prospective, incluait des agriculteurs sud-coréens, qui ont complété en face à face une échelle de dépression. Le risque de symptômes dépressifs apparaissait plus élevé chez ceux qui avaient rapporté un antécédent d'intoxication professionnelle par un pesticide notamment si celle-ci était jugée modérée à sévère. Ces troubles n'étaient pas associés avec l'exposition cumulée au cours de la vie. Un lien était observé plus spécifiquement avec les herbicides, et en particulier avec le paraquat.

Exposition chronique

Lors de l'expertise collective de 2013, la question du lien possible entre les troubles neuropsychiatriques, en particulier le risque de dépression, et l'exposition chronique aux pesticides avait été traitée par une douzaine d'études

dont deux longitudinales. Depuis 2013, 7 études transversales et 5 longitudinales ont été produites et ont apporté de nouveaux résultats.

Les études transversales ont été menées en Amérique du Sud et centrale (culture du café et du tabac au Brésil et culture de légumes au Mexique), en Grande-Bretagne, en Turquie, au Bengladesh et en France. Les trois études américaines ont mis en évidence une majoration des symptômes dépressifs et anxieux chez les personnes exposées, aussi bien chez les travailleurs agricoles que chez les résidents de zones agricoles. Des liens étaient aussi mis en évidence chez les éleveurs de moutons britanniques, sur la base des symptômes qu'ils avaient déclarés. En Turquie, l'exposition aux pesticides chez les hommes qui travaillaient en agriculture doublait le risque de dépression. Au Bengladesh, il n'était pas mis en évidence de risque de dépression chez des personnes résidant à moins de 200 mètres des champs. L'étude française, menée au sein d'une étude cas-témoins portant sur la maladie de Parkinson, montrait un lien entre l'exposition aux herbicides et l'existence d'une dépression traitée ou prise en charge à l'hôpital, rapportée par les participants, avec un effet de la durée d'exposition. Ainsi, les nouvelles analyses transversales menées dans les différents pays vont dans le sens d'une augmentation du risque de troubles anxio-dépressifs en lien avec des expositions chroniques aux pesticides, globalement moins fortes que celles mises en évidence avec les intoxications aiguës, mais pouvant néanmoins atteindre un doublement. Trois de ces études ont suggéré des liens avec des herbicides de natures différentes (sulfonylurées, dinitroanilines, carbamates, dinitrophénols, le glyphosate et l'acide picolinique…), mais pas avec les pesticides organophosphorés.

Deux nouvelles analyses longitudinales ont été menées au sein de l'*Agricultural Health Study*, auxquelles s'ajoutent une cohorte rétrospective de céréaliers au Canada et deux cohortes agricoles prospectives : l'une en Corée et l'autre dans l'Iowa. Dans l'expertise de 2013, les publications sur les troubles anxio-dépressifs au sein de l'AHS étaient de nature transversale et avaient montré des risques de dépression doublés ou triplés en lien avec des intoxications aiguës par des pesticides. Au sein de cette même cohorte, des analyses longitudinales ont depuis été menées, portant sur les cas incidents entre l'inclusion et le suivi à 12 ans. Chez les hommes, l'existence d'une dépression a été associée à l'utilisation de certains pesticides ou familles de pesticides (fumigants, organochlorés, phosphure d'aluminium, dibromure d'éthylène, 2,4,5-T, dieldrine, diazinon, malathion, parathion, lindane, captane…), parfois en lien avec l'exposition cumulée au cours de la vie professionnelle. Une association forte était observée entre la dépression et les antécédents d'intoxication. Chez les femmes, il n'était pas mis en évidence de lien entre la

dépression et l'utilisation de pesticides au cours de la vie professionnelle par elles-mêmes ou par leurs conjoints, mais le risque de dépression était observé chez celles qui avaient un antécédent d'intoxication aiguë. Dans la cohorte canadienne de céréaliers, le score de santé mentale était associé négativement à l'utilisation de phénoxyherbicides, mais ne montrait pas de lien avec d'autres substances, notamment avec les organophosphorés. En Corée du Sud, la survenue de cas incidents de symptômes dépressifs sur une période de près de 3 ans était plus fréquente chez les hommes présentant un score élevé d'exposition – basé sur la durée et l'intensité – et chez ceux qui avaient des antécédents d'intoxication aiguë. Dans l'Iowa, une cohorte de 257 agriculteurs, suivis chaque trimestre, a mis en évidence une association entre l'usage de pesticides et la dépression. L'ensemble des nouvelles analyses longitudinales menées depuis la précédente expertise converge vers une association entre les expositions chroniques aux pesticides et la survenue de troubles anxio-dépressifs, avec des liens forts pour ceux qui ont un antécédent d'intoxication aiguë. Trois de ces analyses évoquent des liens avec des molécules variées.

Neuf études présentées dans l'expertise collective précédente suggéraient un lien possible entre l'exposition aux pesticides et le risque de suicide. Mais ces études ne permettaient pas de distinguer le rôle spécifique des pesticides de celui d'autres facteurs de risque, ni d'argumenter la causalité du lien. Depuis, trois études se sont ajoutées : des résultats provenant d'une cohorte agricole chinoise et brésilienne, une étude cas-témoins en Chine et une étude écologique au Brésil. Dans la cohorte sud-coréenne, des idées suicidaires dans l'année précédant l'entretien apparaissaient jusqu'à trois fois plus fréquentes chez les agriculteurs qui rapportaient un antécédent d'intoxication aiguë par un pesticide. En Chine, l'étude cas-témoins de personnes ayant tenté de mettre fin à leurs jours avec des pesticides (43 cas) a mis en évidence une plus grande fréquence de symptômes liés à des expositions aux organophosphorés, d'agressivité et d'impulsivité qu'en population générale. L'étude écologique brésilienne a montré une surmortalité par suicide à la fois en lien avec le métier d'agriculteur et avec le fait de résider dans une région où la culture de tabac était présente (en lien avec les traitements et/ou des intoxications à la nicotine). Ces nouvelles études vont dans le sens d'un lien entre suicides et exposition aux pesticides, mais présentent, comme les études précédentes, des difficultés à écarter des facteurs de confusion liés au milieu agricole.

En regard des constats épidémiologiques, le rôle de certains pesticides sur le système nerveux central et les interférences possibles avec des neuromédiateurs impliqués dans la régulation de l'humeur doivent susciter des recherches mécanistiques.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et les troubles anxio-dépressifs

Exposition	Populations	Présomption d'un lien
Exposition professionnelle aiguë ou antécédent d'intoxication aux pesticides (sans distinction)	Agriculteurs ou applicateurs	+ [a]
Exposition professionnelle chronique aux pesticides (sans distinction)	Agriculteurs ou applicateurs	+ [b]

+ [a] d'après les résultats de trois cohortes et d'études transversales Niveau de présomption passe de faible à moyen

+ [b] d'après les résultats de quatre études de cohorte et de sept études transversales Niveau de présomption passe de faible à moyen

Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une affection neurologique caractérisée par une atrophie cérébrale accompagnée de plaques séniles (dépôts extracellulaires de peptide β-amyloïde) et de dégénérescence neurofibrillaire (accumulation de protéine Tau phosphorylée). Elle est la cause la plus fréquente de démence chez le sujet âgé, et peut affecter entre 15 et 40 % des sujets de 85 ans et plus. En dehors de l'âge et du sexe féminin, le seul facteur de risque reconnu de la maladie est l'allèle epsilon 4 du gène codant pour l'apolipoprotéine E (APOE4). D'autres facteurs de risque sont suspectés parmi lesquels les traumatismes crâniens, la dépression, l'âge des parents, les antécédents familiaux de démence, les déficits en vitamine B12 ou en folates, les niveaux plasmatiques élevés en homocystéine ou encore les facteurs de risque vasculaires tels que l'hypertension artérielle. La proportion de cas familiaux est faible (de l'ordre de 10 %), ce qui suggère la possible contribution de facteurs environnementaux parmi lesquels les solvants, les champs électromagnétiques, le plomb, l'aluminium et les pesticides.

L'expertise collective de 2013 avait montré que le nombre d'études explorant l'hypothèse du lien entre pesticides et maladie d'Alzheimer était limité, de l'ordre d'une dizaine. En effet, les troubles de mémoire présentés par les patients rendent complexes la reconstitution de l'historique de leurs expositions aux pesticides. Les résultats des études cas-témoins, qui reposaient sur des définitions de l'exposition peu précises (intitulé des professions sur des certificats de décès, données écologiques d'usage des substances) n'étaient généralement pas concluants. Cependant, les trois cohortes existantes, qui relevaient les expositions avant la survenue de la maladie de manière suffisamment détaillée, identifiaient une élévation significative du risque pour les utilisations professionnelles de pesticides. Cette élévation de risque atteignait le quadruplement pour les utilisateurs de défoliants et de fumigants dans une étude canadienne, et un doublement dans les deux autres cohortes en France et aux États-Unis. Les études, majoritairement menées en milieu

agricole ne permettaient pas de conclure pour des pesticides spécifiques, mais avaient exploré plus particulièrement les insecticides et notamment les organophosphorés.

Récemment, une méta-analyse des études épidémiologiques portant sur le rôle des pesticides dans la maladie d'Alzheimer a inclus sept études, toutes identifiées dans la précédente expertise collective : trois études de cohorte (France, États-Unis et Canada) et quatre études cas-témoins (Australie, États-Unis et Canada), jugées de bonne qualité par les auteurs de la méta-analyse. À partir de l'ensemble de ces études, une élévation du risque de 34 % était calculée pour les personnes professionnellement exposées aux pesticides, sans qu'il soit mis en évidence d'hétérogénéité entre les études ou de biais de publication.

Trois nouvelles études ont été publiées sur le lien entre pesticides et maladie d'Alzheimer depuis la précédente expertise collective. Elles ont toutes tenté d'apprécier l'exposition des personnes aux organochlorés par des mesures biologiques, en raison des difficultés spécifiques à reconstituer l'historique des expositions chez des personnes souffrant de troubles de la mémoire.

Une cohorte prospective canadienne a étudié la survenue de la maladie d'Alzheimer en suivant des personnes de 65 ans et plus. Dans un sous-échantillon de cette cohorte, l'exposition aux pesticides était estimée à partir des taux plasmatiques de onze organochlorés. Après un suivi de 10 ans, il n'a pas été mis en évidence de lien entre ces expositions et la survenue de la maladie d'Alzheimer.

Deux nouvelles études cas-témoins ont également été menées, la première aux États-Unis et la seconde en Inde. Dans l'étude américaine, un quadruplement du risque de maladie d'Alzheimer était observé chez les personnes présentant les valeurs de dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE) sérique les plus élevées et une corrélation forte était observée entre le DDE sérique et la teneur de DDE dans des prélèvements cérébraux. Dans l'étude indienne, certains organochlorés ou métabolites d'organochlorés (β-hexachlorobenzène (β-HCH), dieldrine et p,p'-DDE), mesurés dans des échantillons sanguins étaient également plus élevés chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et la maladie d'Alzheimer

Exposition	Populations	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Professionnels	+

+ d'après les résultats de trois cohortes prospectives en 2013, de deux études cas-témoins et d'une méta-analyse incluant les études analysées en 2013 ; les nouvelles études ne modifient pas la force de la présomption.

Maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est la maladie neurodégénérative la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer. Elle est liée à la perte progressive des neurones dopaminergiques d'une structure mésencéphalique impliquée dans la régulation de l'activité des noyaux gris centraux, la *substantia nigra pars compacta*, qui joue un rôle important dans le contrôle de la motricité. Cette perte neuronale est caractérisée par la présence d'inclusions neuronales typiques (corps de Lewy) et l'agrégation de la protéine α-synucléine. À partir des bases de données de l'Assurance maladie, on estime que près de 170 000 personnes étaient traitées en France pour une maladie de Parkinson en 2015 (prévalence = 2,50 pour 1 000 personnes) et qu'il y a environ 25 000 nouveaux cas traités chaque année (incidence = 0,39 pour 1 000 personnes-années). L'incidence de la maladie de Parkinson est dans l'ensemble 1,5 fois plus élevée chez les hommes que chez les femmes. Compte tenu de l'allongement de l'espérance de vie et d'après des projections réalisées sous l'hypothèse d'une incidence constante, il est prévu que le nombre de cas prévalents augmente progressivement pour atteindre 260 000 en 2030, soit environ 1 personne sur 120 parmi les plus de 45 ans.

L'expertise collective « Pesticides : Effets sur la santé » de l'Inserm en 2013 avait principalement examiné la littérature sur la relation entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la maladie de Parkinson. Elle concluait à l'existence d'une association entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la maladie de Parkinson, mais il était plus difficile de conclure quant à l'effet de pesticides spécifiques. Dans ses rapports de 2013 et 2016, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa) arrivait à la même conclusion. D'après la méta-analyse la plus complète et détaillée disponible à cette date, l'association était plus particulièrement présente pour les herbicides et les insecticides. Parmi les herbicides, certaines études retrouvaient une association avec le paraquat ou le 2,4-D. Parmi les insecticides, plusieurs études retrouvaient des arguments en faveur d'une association avec les insecticides organochlorés. La revue de la littérature toxicologique retrouvait également des arguments en faveur du rôle de certains pesticides ou familles de pesticides dans différents mécanismes impliqués dans l'étiologie de la maladie de Parkinson (stress oxydant et dysfonctionnement mitochondrial, activation du métabolisme de la dopamine, formation d'agrégats cytoplasmiques d'α-synucléine, apoptose).

Plusieurs revues et méta-analyses ont été publiées depuis la précédente expertise collective. Dans l'ensemble, toutes les méta-analyses confirment l'existence d'une association entre l'exposition aux pesticides, principalement d'origine professionnelle, et la maladie de Parkinson et n'apportent pas d'élément nouveau par rapport aux méta-analyses discutées dans l'expertise collective de 2013.

Quelques études nouvelles, dont trois en France (deux cohortes et une cas-témoins), retrouvent une augmentation de la fréquence de la maladie de Parkinson chez les agriculteurs et une association avec l'exposition professionnelle aux pesticides ; certaines de ces études mettent en évidence une relation dose-effet et montrent qu'en plus de la durée, l'intensité d'exposition est importante à prendre en compte. Concernant les analyses par famille ou substances actives de pesticides, deux méta-analyses sur le paraquat montrent des associations significatives, ce qui va dans le sens des résultats de 2013. La cohorte AGRICAN a exploré le lien avec 14 pesticides (11 fongicides dithiocarbamates, le paraquat, le diquat et la roténone). Les analyses ont montré une association pour l'ensemble de ces substances mais après ajustement sur l'exposition à au moins un autre pesticide, seule l'association pour le zirame et le zinèbe restait significative, et à la limite de la significativité pour le mancopper. Dans des analyses prenant en compte la durée d'exposition, une tendance significative existait pour 7 des 14 matières actives ; lorsque les analyses étaient ajustées sur l'exposition à au moins un autre pesticide (sans distinction), la tendance était significative pour le mancopper ($p = 0,04$), il n'existait pas de tendance pour le zinèbe et le zirame. Une cohorte néerlandaise mentionne une augmentation du risque pour le bénomyl mais les résultats ne sont pas corroborés par la cohorte AHS.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et la maladie de Parkinson

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Professionnels	++
Herbicides (sans distinction)		++
Insecticides (sans distinction)		++
Pesticides (sans distinction)	Population générale ou riverains des zones traitées	±

++ d'après les résultats de la méta-analyse la plus récente en 2013 ; plusieurs méta-analyses supplémentaires ne modifient pas la conclusion.
± d'après les résultats d'une étude cas-témoins en 2013 et d'études écologiques récentes Données nouvelles

L'expertise collective de 2013 avait pointé le manque d'études sur le rôle de l'exposition environnementale aux pesticides. Seules les études cas-témoins à partir du registre de ventes de pesticides en Californie étaient disponibles à cette date. L'exposition environnementale aux pesticides était évaluée en combinant les lieux de résidence et de travail avec un registre de ventes de pesticides, grâce à un système d'information géographique. Il existait une association entre l'exposition environnementale à certains pesticides traceurs et la maladie de Parkinson. Depuis, plusieurs études, avec des méthodologies différentes, ont été publiées dans d'autres pays, mais également en France, permettant d'apporter des éléments d'information complémentaires. Elles retrouvent des arguments en faveur d'une augmentation du risque de maladie de Parkinson en relation avec

l'exposition environnementale aux pesticides ou l'habitat à proximité de terrains agricoles traités. Elles rapportent des associations pour quelques substances actives (mancozèbe et manèbe), mais il s'agit souvent d'études écologiques avec des indicateurs d'exposition peu précis et des études complémentaires, idéalement à partir de données individuelles, sont encore nécessaires.

Aussi bien pour l'exposition professionnelle qu'environnementale aux pesticides, il reste difficile de mettre en évidence le rôle de produits ou de familles de produits spécifiques. Les études dont on dispose se sont intéressées souvent à des produits différents, et donc ne se recoupent que très partiellement et les analyses statistiques ne prennent pas toujours bien en compte la question des expositions corrélées à plusieurs produits. Néanmoins, hormis les substances déjà identifiées en 2013 (paraquat, roténone et insecticides organochlorés notamment la dieldrine), deux nouvelles méta-analyses récentes confirment le lien avec le paraquat (+), mais les résultats pour la dieldrine sont inchangés et le niveau de présomption d'un lien reste faible (±) et ne figure pas dans le tableau. Les nouvelles études évoquent des associations avec les familles ou matières actives suivantes : insecticides organophosphorés, fongicides dithiocarbamates (mancozèbe, manèbe, zinèbe, zirame, mancopper) et carbamates (bénomyl). Certains de ces résultats s'appuient sur des études écologiques, sont à la limite de la significativité statistique ou bien posent la question des corrélations entre produits et n'ont pas été inclus dans le tableau (organophosphorés, mancozèbe, manèbe, bénomyl) et mériteraient d'être confirmés par des études complémentaires.

Enfin, on note qu'aucune étude ne permet d'aborder le rôle des expositions précoces aux pesticides, que cela soit pendant la grossesse ou dans l'enfance.

Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque de maladie de Parkinson

Famille Substances actives	Population	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Insecticides	Professionnels	++
Dithiocarbamates (fongicides)		
Mancopper	Agriculteurs	±
Zinèbe	Agriculteurs	±
Zirame	Agriculteurs	±
Autres		
Paraquat	Agriculteurs	+ [a]
Roténone	Agriculteurs	+ [b]

++ d'après les résultats de plusieurs études de cohorte
+ [a] d'après les résultats d'une cohorte en 2013 et deux méta-analyses (qui reprennent essentiellement des études analysées en 2013) ; les nouvelles études ne modifient pas le niveau de la présomption ; + [b] d'après les résultats d'une cohorte en 2013
± d'après les résultats d'une cohorte (AGRICAN) Données nouvelles

Sclérose latérale amyotrophique

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une affection neurodégénérative progressive responsable d'une faiblesse musculaire associée à une rigidité s'étendant progressivement et responsable du décès en raison de difficultés respiratoires et de troubles de la déglutition. Elle est secondaire à la dégénérescence des neurones moteurs de la moelle épinière (corne antérieure), du tronc cérébral et du cortex cérébral. La médiane de la durée d'évolution après les premiers symptômes est en moyenne de 30 mois et après le diagnostic de 19 mois.

La SLA est la plus fréquente des maladies du motoneurone et on estime que près de 2 200 personnes ont développé une maladie du motoneurone chaque année en France sur la période 2012-2014. Plusieurs études suggèrent que la mortalité et l'incidence de la SLA ont augmenté dans les dernières décennies mais les raisons qui expliqueraient cette évolution restent mal connues. Plusieurs facteurs, génétiques et environnementaux, interviennent vraisemblablement dans l'étiologie de la SLA. Parmi les facteurs de risque environnementaux, le tabagisme serait associé à une augmentation du risque de SLA de même que l'exposition au plomb, tandis que le rôle de l'activité physique et celui des traumatismes, notamment crâniens, reste débattu.

L'expertise collective Inserm de 2013 avait identifié une dizaine d'études sur la relation entre la SLA et l'exposition professionnelle aux pesticides. Deux méta-analyses étaient en faveur d'une association, mais les études qu'elles avaient prises en compte étaient hétérogènes, notamment quant aux méthodes d'évaluation de l'exposition. De plus, il était difficile d'évaluer l'existence d'un biais de publication compte tenu du petit nombre d'études disponibles. L'expertise avait conclu au besoin d'études de grande taille et comportant une évaluation de l'exposition plus précise (type de produits, durée d'exposition) afin de mieux caractériser la relation entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la SLA.

Depuis la précédente expertise, deux méta-analyses ont été publiées qui sont en faveur d'une association entre l'exposition, principalement professionnelle, aux pesticides et la SLA. Elles reposent sur des études qui avaient toutes été publiées en 2012 ou avant et la plupart avaient déjà été prises en compte dans les méta-analyses précédentes. L'association était similaire dans les études cas-témoins et de cohorte. Elle était en revanche plus forte chez les hommes que chez les femmes et dans les études ayant évalué l'exposition aux pesticides par des experts par rapport aux études reposant sur l'autodéclaration de l'exposition. Il n'existait pas d'argument statistique pour un biais de publication.

Parmi les quatre nouvelles études publiées depuis la précédente expertise collective, certaines apportent des arguments en faveur d'une association entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la SLA, mais elles sont hétérogènes, notamment par rapport à l'évaluation des expositions et la prise en compte des facteurs de confusion. Deux études de cohorte ont été publiées, aux Pays-Bas et en France : l'une, qui repose sur un faible nombre de cas exposés, ne retrouve pas d'association et l'autre ne porte pas sur l'exposition aux pesticides, mais a montré une tendance à l'augmentation de l'incidence de la SLA chez les exploitants agricoles français par rapport à la population générale. Seules deux études se sont intéressées au rôle de l'exposition environnementale et ne permettent pas de conclure en raison de résultats discordants.

Ces nouvelles études ne modifient pas sensiblement les conclusions de l'expertise collective de 2013. Des études de grande taille et comportant une évaluation de l'exposition plus précise (type de produits, durée d'exposition) demeurent nécessaires afin de mieux caractériser la relation entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la SLA et de déterminer si l'exposition environnementale joue un rôle.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et sclérose latérale amyotrophique

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Agriculteurs	±

± d'après les résultats de deux méta-analyses en 2013, deux méta-analyses récentes (qui reprennent des études analysées en 2013), deux études de cohorte (Pays-Bas et France) et plusieurs études cas-témoins hospitalières ; pas d'études nouvelles qui soient informatives et qui permettent de modifier le niveau de la présomption

Pathologies cancéreuses

Certaines pathologies cancéreuses avaient déjà fait l'objet d'une analyse dans l'expertise 2013 et les données ont été réactualisées pour les cancers de l'enfant, les tumeurs du système nerveux central, les hémopathies malignes et le cancer de la prostate. De nouvelles pathologies ont été considérées dans cette expertise : le cancer du sein, les cancers du rein et de la vessie et les sarcomes des tissus mous et des viscères.

Cancers de l'enfant

En France, environ 1 700 nouveaux cas de cancers sont diagnostiqués chaque année chez des enfants de moins de 15 ans. Ce nombre correspond à un taux d'incidence standardisé sur l'âge de l'ordre de 15,6 cas pour 100 000 enfants

par an, comparable aux taux d'incidence observés globalement en Europe et en Amérique du Nord, même si des différences entre pays persistent pour certains types de cancer. Le taux d'incidence des cancers de l'enfant en France est par ailleurs assez stable depuis 2000. De par le monde, les cancers sont une des causes principales de décès chez les enfants. En France en particulier, ils sont la deuxième cause de décès chez les 1-14 ans, après les accidents.

Les principaux types de cancer diagnostiqués chez les enfants sont les leucémies aiguës (environ 30 % des nouveaux cas), les tumeurs du système nerveux central (SNC ; environ 25 %), les lymphomes (environ 10 %) et les tumeurs embryonnaires (environ 20 %, répartis en neuroblastomes, néphroblastomes, rhabdomyosarcomes, rétinoblastomes et hépatoblastomes).

Des étiologies différentes sont suspectées selon les types de cancers de l'enfant, mais elles sont encore mal connues. Les facteurs de risque qui sont établis pour les principaux groupes diagnostiques sont les rayonnements ionisants à forte dose et certains syndromes génétiques rares. Parmi les facteurs de risque fortement suspectés de jouer un rôle dans la survenue des cancers de l'enfant, on peut citer des prédispositions génétiques, des infections et l'exposition aux contaminants environnementaux, en particulier la pollution liée au trafic routier et les pesticides.

Sur la base des résultats de plusieurs méta-analyses publiées avant 2013, l'expertise collective Inserm de 2013 avait conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition professionnelle et domestique aux pesticides (insecticides et herbicides sans distinction) de la mère pendant la grossesse et le risque de leucémie chez l'enfant. De même, l'exposition liée aux usages domestiques pendant l'enfance était associée au risque de leucémie avec une présomption forte.

Depuis, quatre méta-analyses ont été publiées, trois explorant l'exposition liée aux usages domestiques de produits pesticides par les parents (ou par des professionnels) et une à l'exposition professionnelle.

Ces méta-analyses récentes confirment l'augmentation du risque de leucémie aiguë chez les enfants lors d'une exposition maternelle aux pesticides due à un usage domestique pendant la grossesse et lors d'une exposition pendant l'enfance. La première, une analyse combinée des données du consortium *Childhood Leukemia International Consortium* (CLIC), a mis en évidence une augmentation du risque de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) de 43 % chez les enfants dont les mères ont été exposées aux pesticides par les usages domestiques pendant la grossesse (9 études) ainsi qu'une augmentation de 55 % du risque de leucémie aiguë myéloïde (LAM ; 7 études). Une association était également rapportée entre l'exposition de l'enfant aux pesticides par les usages domestiques après sa naissance et le risque de LAL mais pas

de LAM quelles que soient les catégories de pesticides utilisées (insecticides, herbicides, fongicides, rodenticides). La seconde méta-analyse confirme que l'exposition aux pesticides par les usages domestiques en périodes pré- et post-natale était associée globalement à une augmentation du risque de LAL (8 études) et de LAM (5 études), avec des élévations de risque du même ordre de grandeur que celles retrouvées dans la première méta-analyse. La troisième rapporte également un lien entre l'exposition aux pesticides pendant la grossesse et le risque de survenue de leucémies. Notons que les résultats de ces méta-analyses ne sont pas indépendants car elles incluent toutes les trois les études du CLIC dont la contribution est importante.

L'association positive observée précédemment entre l'exposition maternelle professionnelle pendant la grossesse et le risque de LAM chez l'enfant est confirmée par une méta-analyse réalisée à partir de 13 études du CLIC, auxquelles ont été ajoutées des études anciennes ne participant pas au consortium et d'autres études récentes. Ce travail a permis également de montrer un triplement du risque de LAM chez les enfants dont les mères ont été les plus exposées professionnellement aux pesticides pendant la grossesse (9 études). Une augmentation du risque de LAL est également suggérée, en particulier dans la méta-analyse du CLIC (plus de 8 000 cas de leucémies aiguës et 14 000 témoins) en cas d'exposition professionnelle paternelle aux pesticides en période préconceptionnelle. Les résultats des études incluses dans la méta-analyse étaient toutefois très hétérogènes.

Une méta-analyse sur les cancers de l'enfant et plusieurs études cas-témoins de petite taille suggèrent également une association entre l'exposition liée aux usages domestiques de pesticides et le risque de lymphomes non hodgkiniens chez l'enfant (présomption faible d'un lien).

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et les hémopathies malignes de l'enfant

Exposition	Effets	Présomption d'un lien
Exposition professionnelle maternelle aux pesticides (sans distinction) pendant la grossesse	Leucémies (LAM)	++ [a]
Exposition professionnelle paternelle aux pesticides (sans distinction) préconceptionnelle	Leucémies (LAL)	+
Exposition domestique (usages domestiques) aux pesticides (sans distinction) pendant la grossesse ou chez l'enfant	Leucémies (LAL et LAM)	++ [b]
Exposition domestique aux pesticides (sans distinction) pendant la grossesse ou chez l'enfant	Lymphomes non hodgkiniens	±

++ [a] d'après les résultats de deux méta-analyses en 2013 et une méta-analyse supplémentaire ; renforce les résultats de 2013
+ d'après une méta-analyse (avec hétérogénéité entre les résultats des études) et une étude cas-témoins Données nouvelles
++ [b] d'après les résultats de deux méta-analyses en 2013, et de trois méta-analyses supplémentaires ; renforce les résultats de 2013
± d'après les résultats d'une méta-analyse de trois études et les résultats de plusieurs études de petite taille Données nouvelles
LAL : leucémie aiguë lymphoblastique ; LAM : leucémie aiguë myéloïde.

L'expertise collective Inserm de 2013 avait également conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition professionnelle aux pesticides du père et de la mère pendant la période prénatale et le risque de tumeurs du système nerveux central (SNC) chez l'enfant. Les études récentes sur le lien entre l'exposition aux pesticides et le risque de tumeurs du SNC chez l'enfant sont peu nombreuses et ont porté principalement sur l'exposition liée aux usages domestiques de pesticides (insecticides et herbicides) pendant la grossesse et l'enfance.

Deux méta-analyses ont été publiées, l'une incluant 18 études publiées entre 1979 et 2016, et l'autre une partie seulement de ces études. Les auteurs de la première méta-analyse ont rapporté une association positive entre l'exposition par usages domestiques aux pesticides et le risque de tumeurs du SNC chez l'enfant avec une augmentation du risque de 26 %. Les analyses montraient une association positive du même ordre de grandeur par catégorie de pesticides (insecticides, herbicides) et une association avec le risque de gliomes était suggérée.

Récemment, une étude cas-témoins, regroupant les données de deux études françaises (études ESCALE et ESTELLE) réalisées en population générale, a mis en évidence une association positive entre l'utilisation domestique de produits pesticides (principalement des insecticides) par la mère pendant la grossesse et le risque de tumeur du SNC chez l'enfant, avec une augmentation du risque de 40 %, observée globalement et pour les principaux types de tumeurs du SNC (épendymomes, tumeurs embryonnaires, gliomes).

Ainsi, de manière cohérente, une augmentation du risque de tumeurs du SNC chez l'enfant a été rapportée. Ces résultats concernent les tumeurs du SNC dans leur ensemble, les études ne permettant pas d'établir des conclusions fermes pour les différents sous-types.

À l'heure actuelle, les études géographiques s'intéressant aux cancers de l'enfant (leucémies et tumeurs du SNC principalement) en lien avec soit la présence de cultures, soit l'utilisation de pesticides agricoles à proximité du domicile, sont encore peu nombreuses. Les résultats sont hétérogènes et ne permettent pas de conclure à une présomption de lien.

Des associations positives avec l'exposition aux pesticides sont suggérées pour d'autres types de cancers de l'enfant (tumeurs embryonnaires, en particulier), mais l'état actuel des connaissances épidémiologiques ne permet pas de conclure de manière définitive.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et tumeurs du système nerveux central de l'enfant

Exposition	Effets	Présomption d'un lien
Exposition professionnelle des parents aux pesticides (sans distinction) pendant la période prénatale	Tumeurs du système nerveux central	++ [a]
Exposition domestique (usages domestiques) aux pesticides (sans distinction) pendant la grossesse ou chez l'enfant	Tumeurs du système nerveux central	++ [b]

++ [a] d'après les résultats d'une méta-analyse en 2013

++ [b] d'après les résultats de deux méta-analyses et d'une étude cas-témoins Données nouvelles

Tumeurs du système nerveux central de l'adulte

Les tumeurs primitives du système nerveux central (SNC) regroupent des entités diverses qui se développent à partir de cellules spécialisées. On distingue de nombreux types histologiques, qui sont classés selon leur origine en plusieurs groupes ; principalement les tumeurs neuroépithéliales (représentées en majorité par les gliomes), les tumeurs des méninges, les tumeurs des nerfs crâniens et les lymphomes primitifs du SNC. Les tumeurs neuroépithéliales représentent près de la moitié des tumeurs du SNC. Elles ont pour origine, soit les neurones, soit les cellules gliales entourant les neurones.

Les tumeurs du système nerveux central sont rares et les formes malignes représentent 1,5 % de toutes les formes de cancer en France. Le taux d'incidence des formes malignes est d'environ 11 cas pour 100 000 personnes-années. Si l'on ajoute les tumeurs dites bénignes (et en particulier les méningiomes), dont le pronostic peut également être défavorable, le taux d'incidence atteint 20 pour 100 000 personnes-années selon le registre de Gironde. En dehors des radiations ionisantes et de certains syndromes génétiques particuliers, les tumeurs du système nerveux central, quel que soit leur type histologique, ne disposent à ce jour d'aucun facteur étiologique établi.

Lors de l'expertise collective réalisée en 2013, le nombre d'études portant sur le lien entre tumeurs cérébrales et pesticides était d'environ une vingtaine si on ne prend pas en compte les cohortes historiques et les études cas-témoins professionnelles générales (c'est-à-dire s'appuyant sur les intitulés des professions sans estimation précise des expositions) qui n'explorent que très imparfaitement l'exposition aux pesticides ou portent sur un nombre de cas très faible.

À partir de ces données, l'expertise collective de 2013 avait conclu à une présomption faible d'un lien entre l'exposition aux pesticides dans les

populations agricoles et les tumeurs cérébrales (gliomes et méningiomes) mais n'avait pas pu conclure concernant des matières actives précises. Seule une élévation de risque significative d'incidence de tumeurs cérébrales était rapportée dans la cohorte *Agricultural Health Survey* (AHS) chez les personnes ayant le niveau d'exposition au chlorpyrifos le plus élevé.

Depuis, 12 études nouvelles ont été réalisées dont 1 méta-analyse, 7 analyses de cohorte (4 dans l'AHS et 3 dans AGRICAN) et 4 études cas-témoins.

Alors que les précédentes méta-analyses portaient de manière large sur les tumeurs cérébrales en milieu agricole, sans distinction du type de tumeur ou du schéma d'études et sans prise en compte de l'exposition aux pesticides, la nouvelle méta-analyse était centrée sur 11 études cas-témoins ayant estimé le risque de gliomes chez les adultes en lien avec l'exposition aux pesticides. Elle conclut à une élévation de risque de 15 % non statistiquement significative, mais souligne le faible nombre d'études et l'hétérogénéité existant entre elles.

Les quatre nouvelles études cas-témoins ont été menées en Italie (deux études), en France et en Inde. En Italie, les deux études cas-témoins hospitalières, menées dans deux provinces différentes, ont mis en évidence des élévations de risque chez les agriculteurs, pour l'une de l'ordre du doublement et pour l'autre du triplement de risque. En France, l'étude CERENAT a inclus environ 600 cas et 1 200 témoins en Gironde, dans le Calvados, la Manche et l'Hérault. En se basant sur le calendrier résidentiel recueilli sur la vie entière, l'analyse a pris en compte l'exposition liée à la proximité résidentielle de zones agricoles. Des tendances à une élévation du risque de méningiome ont été observées pour les personnes ayant résidé dans des zones de grandes cultures, de vignes ou de vergers. Cette élévation devenait statistiquement significative pour les scores d'exposition les plus élevés à proximité de grandes cultures. En Inde, dans une région fruitière, une baisse des niveaux d'acétylcholinestérase était observée chez les cas atteints de tumeurs cérébrales primitives. Ainsi, les quatre nouvelles études cas-témoins vont dans le sens d'une élévation du risque en milieu agricole mais ne permettent pas de préciser la force de l'association ni les substances potentiellement en cause.

Des résultats nouveaux ont également été produits par les deux grandes cohortes prospectives, AHS aux États-Unis et AGRICAN en France. Dans la cohorte américaine, des analyses chez les applicateurs de pesticides n'ont pas mis en évidence de lien avec l'alachlore et le métolachlore. En revanche, chez les conjointes des applicateurs, une élévation du risque de gliomes était observée en lien avec l'utilisation d'organochlorés, en particulier chez celles

qui avaient utilisé du lindane. Chez ces mêmes conjointes, il n'était pas mis en évidence d'association significative avec les organophosphorés. Le suivi de la cohorte AGRICAN jusqu'en 2011 a également permis de produire de nouvelles données sur les tumeurs du système nerveux central. Les personnes ayant travaillé dans au moins une culture ou un élevage présentaient une élévation du risque de tumeur, aussi bien pour les méningiomes que pour les gliomes. Les risques étaient plus élevés pour certaines cultures : pois fourrager, betteraves, pommes de terre. Par ailleurs, les utilisateurs de pesticides avaient deux fois plus de risque de développer une tumeur du système nerveux central que les autres participants de la cohorte. Des analyses spécifiques ont été menées pour les pesticides carbamates (insecticides, fongicides et herbicides). L'exposition à ces substances augmentait le risque de gliomes et de méningiomes, d'autant que l'exposition était longue, et plus importante pour certaines substances, avec des niveaux de risque pouvant atteindre le triplement ou le quadruplement.

Des données issues des études mécanistiques sur le lindane, le chlorpyrifos et certains membres de la famille des carbamates sur des modèles neuronaux renforcent la plausibilité d'un lien avec la survenue de tumeurs du système nerveux central. En effet, le lindane, un cancérogène avéré, perturbe la synthèse et le transport de protéines. Plusieurs pistes peuvent être évoquées pour expliquer un effet cancérogène du chlorpyrifos ou de ses métabolites : *i*) un blocage de la différenciation et un maintien dans un état prolifératif par diminution des niveaux d'AMPc ou production d'espèces réactives de l'oxygène, et *ii*) une survie cellulaire favorisée par une augmentation de l'activité de la transglutaminase 2. Des effets mutagènes ou génotoxiques ont été mis en évidence pour les carbamates, mais à des doses relativement élevées. Deux membres de cette famille, le manèbe et le zirame, ont été particulièrement étudiés dans le cadre de la maladie de Parkinson et leurs effets suspectés de contribuer à cette pathologie (agrégation de protéines, activité pro-oxydant) peuvent également expliquer certains processus de cancérogénicité. En outre, d'autres mécanismes potentiellement impliqués ont été mis en lumière tels que la perturbation endocrinienne ou métabolique, la mitotoxicité, des effets immunomodulateurs, ou la modification de la distribution d'autres contaminants. Ces effets mériteraient d'être validés sur d'autres modèles expérimentaux (co-cultures, systèmes 3D, « organoïdes de cerveaux ») et à travers des études réalisées sur ces pesticides en mélange ou en présence d'autres cancérogènes.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et tumeurs du système nerveux central (gliomes et méningiomes)

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Populations agricoles	+

+ d'après les résultats de trois méta-analyses, d'études de cohorte et d'études transversales en 2013, et les résultats de deux études de cohorte (AHS et AGRICAN) et de quatre études cas-témoins Niveau de présomption passe de faible à moyen

Hémopathies malignes de l'adulte

Les hémopathies malignes sont des tumeurs atteignant les tissus hématopoïétiques, comme la moelle osseuse ou les tissus lymphoïdes (ganglions, rate...). Il s'agit de proliférations monoclonales qui se développent à partir des cellules sanguines ou du système immunitaire à différents stades de leur maturation. Les progrès réalisés dans la compréhension des hémopathies malignes ont entraîné de nombreux changements dans la façon dont ces maladies étaient classées, diagnostiquées et traitées. Depuis 2001, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a produit une nouvelle classification consensuelle qui définit les tumeurs malignes hématologiques en fonction de leur lignée cellulaire, des anomalies génétiques et des caractéristiques cliniques, réactualisée en 2008 et 2016, et qui est incorporée dans la Classification internationale des maladies pour l'oncologie (CIM-O-3). On distingue d'abord les leucémies, qui sont des « tumeurs liquides » dans le sang, et dérivent de la transformation d'un précurseur hématopoïétique dans la moelle osseuse ou d'une cellule hématopoïétique mature dans le sang. Les leucémies peuvent être lymphoïdes ou myéloïdes, aiguës ou chroniques. Concernant les lymphomes, la transformation de lymphocytes dans un tissu lymphoïde secondaire génère le plus souvent une maladie se présentant cliniquement comme une tumeur solide. Les lymphomes sont classés en lymphome de Hodgkin (LH) ou en lymphome non hodgkinien (LNH) dont les sous-types sont nombreux.

La distinction des entités sur la base des caractéristiques morphologiques, phénotypiques, génotypiques et cliniques reflète un changement de paradigme dans l'approche de la classification des hémopathies malignes. Bien que le maintien des regroupements d'origine soit utile pour les comparaisons historiques, les statistiques descriptives contemporaines produisent, au moins dans les pays occidentaux, des données épidémiologiques détaillées par sous-types, pour refléter l'état actuel des connaissances. Dans un objectif de clarté, nous avons décidé de garder la structure en quatre groupes de l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013 (lymphomes non hodgkiniens, myélome multiple, lymphome de Hodgkin et leucémie). En effet, cela permet au

lecteur de se repérer et de comparer les nouvelles données épidémiologiques avec celles de la précédente expertise collective Inserm.

Lymphomes non hodgkiniens

Les LNH sont des prolifération monoclonales de lymphocytes à différents stades de leur différenciation. À bien des égards, les différents types de LNH semblent récapituler les étapes de différenciation normale des lymphocytes B ou T, et dans une certaine mesure, ils peuvent être classés selon la cellule normale correspondante. Cependant, ce n'est pas systématiquement le cas et la contrepartie normale de la cellule tumorale ne peut pas être la seule base de classification. La classification OMS distingue les types de LNH sur la base de caractéristiques morphologiques et immunologiques. Le stade de différenciation, la morphologie et les caractéristiques phénotypiques, génotypiques, et cliniques sont également utilisés pour distinguer les différents sous-types de LNH. Les LNH regroupent donc de nombreuses entités nosologiques différentes de par leur physiopathologie, leur diagnostic histologique, leur biologie et leur pronostic.

Les LNH représentent 60 % des hémopathies malignes avec environ 27 000 nouveaux cas en 2018 en France métropolitaine. Les taux d'incidence standardisés sur la population mondiale sont respectivement de 25,5 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 16,1 chez la femme.

L'augmentation du nombre de cas entre 1990 et 2018 est de 123 % chez l'homme (7 000 à 15 500 cas incidents) et 109 % chez la femme (5 800 à 12 100 cas incidents) dont la moitié peut s'expliquer par l'augmentation et le vieillissement de la population. L'autre moitié de cette augmentation correspond à l'augmentation du risque, qu'il soit lié à l'amélioration du diagnostic, un meilleur accès aux soins ou à des facteurs de risque dont la prévalence augmente. Les variations annuelles moyennes des taux d'incidence standardisés sur la population mondiale sont de 1 % entre 1990 et 2018 chez l'homme et la femme. Les tendances évolutives de l'incidence varient selon les sous-types histologiques de LNH mais la majorité d'entre eux ont une évolution à la hausse.

Les principaux sous-types de LNH sont le lymphome diffus à grandes cellules B (taux d'incidence de 4,7 et 3,2 pour 100 000 personnes-années, respectivement chez l'homme et la femme en 2018 en France ; 5 071 nouveaux cas estimés en 2018), le lymphome folliculaire (taux d'incidence de 2,9 et 2,0 pour 100 000 personnes-années respectivement chez l'homme et la femme en 2018 en France ; 3 066 nouveaux cas en 2018), le lymphome de

la zone marginale (taux d'incidence de 2,3 et 1,7 pour 100 000 personnes-années respectivement chez l'homme et la femme en 2018 en France ; 2 790 nouveaux cas en 2018). Ces trois hémopathies lymphoïdes ont une incidence qui augmente depuis les années 1990. À noter que le myélome multiple fait partie des hémopathies lymphoïdes les plus fréquentes. Il est aujourd'hui regroupé avec les LNH mais sera traité dans un paragraphe spécifique, de même que la leucémie lymphoïde chronique regroupée aujourd'hui avec le lymphome lymphocytique en une seule entité qui sera traitée dans le paragraphe sur les leucémies. Ces cinq maladies représentent 80 % des nouveaux cas de LNH diagnostiqués chaque année en France.

L'expertise collective « Pesticides : Effets sur la santé » de l'Inserm en 2013 avait conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition aux pesticides, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, chez les agriculteurs, chez les applicateurs de pesticides et chez les ouvriers de l'industrie de production de pesticides et le risque de survenue de LNH.

Plus spécifiquement, des associations entre LNH et familles ou substances actives de pesticides avaient également été recherchées mais la majorité des résultats par substances actives était issue de la cohorte américaine AHS. D'après les résultats de plusieurs études (cohortes ou études cas-témoins nichées ou études cas-témoins), les substances actives comme le lindane, le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), le terbufos, le diazinon, le malathion, le butilate, le 2,4-D phénoxyherbicide ou le glyphosate étaient spécifiquement associées à un excès de risque significatif dans des populations de professionnels (agriculteurs, applicateurs, éleveurs, ouvriers en industrie de production). Dans plusieurs autres situations, la présomption de lien reposait sur une seule étude cas-témoins (notée « ± »), lorsqu'étaient considérées d'autres familles ou substances actives ou lorsque les études concernaient des populations professionnelles plus largement définies que celle des agriculteurs ou des populations exposées en dehors de la profession. Aucune analyse par sous-types histologiques n'était disponible.

Depuis l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, treize méta-analyses ont été publiées (deux abordent l'exposition à plusieurs familles ou substances actives, dix se focalisent sur une famille ou substance active particulière et la dernière s'intéresse aux éleveurs). Chacune présente des analyses par sous-types de LNH. Trois analyses de cohortes ont été publiées dont deux à partir des données de l'AHS et une de la cohorte en population générale *Women's Health Initiative*. Enfin, trois études cas-témoins apportent également des résultats probants. Les deux premières méta-analyses sont les plus complètes mais de natures différentes, la première fait une revue exhaustive des études cas-témoins ou cohortes publiées puis rapporte des estimations

d'associations entre les LNH et 21 familles de pesticides et 80 substances actives tandis que la seconde provient du consortium des cohortes d'agriculteurs (Agricoh) et étudie le rôle de l'exposition (14 familles de pesticides et 33 substances actives) sur le risque de survenue de LNH et de ses principaux sous-types.

De la première méta-analyse on peut retenir que plusieurs familles de pesticides étaient associées positivement avec le risque de LNH (phénoxyherbicides, insecticides carbamates, insecticides organophosphorés). Plusieurs substances actives étaient également associées au risque de survenue de LNH (lindane, dicamba, DDT, carbaryl, carbofuran, diazinon, malathion, glyphosate). Cependant, aucun effet-dose n'était évalué dans cette étude (analyse en oui/non). Le risque de lymphome B était associé à l'exposition aux phénoxyherbicides (de même que le lymphome diffus à grandes cellules B), au glyphosate et au DDT (tout comme le lymphome folliculaire). De la seconde méta-analyse provenant du consortium Agricoh, on retient que la plupart des associations testées étaient non statistiquement significatives, excepté pour les LNH et le terbufos ou le lymphome diffus à grandes cellules B et le glyphosate, après ajustement sur les autres pesticides. Aucun élément d'hétérogénéité entre les résultats des trois cohortes n'était objectivé.

Entre 2013 et 2019, dix autres méta-analyses ont étudié le lien entre une famille spécifique de pesticides ou une substance active et le risque de LNH : deux sur les organochlorés, une sur les organophosphorés, une sur les insecticides carbamates et organophosphorés, trois sur le glyphosate, deux sur le phénoxyherbicide 2,4-D et une sur le pentachlorophénol. La première sur les organochlorés rapporte une augmentation du risque de LNH avec la famille des organochlorés, et de fortes associations avec le dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE), l'hexachlorocyclohexane (HCH), l'hexachlorobenzène (HCB), et le chlordane. En revanche aucune association n'était observée avec le DDT. L'étude récente du *North American Pooled Project* rapporte des associations positives entre plusieurs substances actives organochlorées et différents sous-ensembles de LNH, en particulier pour le lindane, le chlordane et le DDT : le lindane avec le lymphome folliculaire, le lymphome diffus à grandes cellules B et le lymphome lymphocytique, le chlordane avec le lymphome folliculaire et le lymphome lymphocytique, et le DDT avec le lymphome diffus à grandes cellules B et le lymphome lymphocytique. Cette analyse suggère une hétérogénéité étiologique possible des LNH vis-à-vis de l'exposition aux substances actives étudiées.

Il ressort de la méta-analyse sur les organophosphorés qu'une augmentation statistiquement significative du risque de LNH était observée pour l'exposition à une des trois substances actives suivantes : malathion, diazinon, terbufos.

Cette association était significative uniquement pour certains types d'études (cas-témoins ou cas-témoins nichées dans la cohorte). Certains de ces résultats sont retrouvés dans une autre méta-analyse portant sur l'exposition aux insecticides carbamates et organophosphorés, en particulier avec le malathion pour lequel le risque augmentait avec la durée de l'exposition rapportée par les agriculteurs. Ces résultats sont également observés pour les sous-types lymphome diffus à grandes cellules B et lymphome folliculaire. L'évaluation du rôle du mélange de tous les insecticides organophosphorés et carbamates montrait une association entre la durée d'exposition et le risque de LNH.

Concernant les méta-analyses centrées sur l'exposition au glyphosate, on peut retenir que le risque de LNH était augmenté selon les études de 30 à 45 % selon que l'on évaluait le risque chez l'ensemble des sujets (exposés *versus* non exposés) ou uniquement dans les groupes les plus exposés. Dans une méta-analyse regroupant les études cas-témoins, les ajustements sur les expositions aux autres pesticides diminuaient le risque, ce qui n'était pas observé dans la méta-analyse réalisée à partir des données de cohortes d'agriculteurs.

Concernant le 2,4-D, les auteurs s'intéressaient aux expositions les plus élevées de chaque étude et identifiaient une association positive statistiquement significative avec le risque de LNH. Cependant, une hétérogénéité inter-études modérée incite à une certaine prudence dans l'interprétation des résultats.

La dernière analyse de la cohorte AHS distinguait 26 familles de pesticides ou substances actives. L'association positive avec l'exposition au terbufos était retrouvée (sans effet-dose). En revanche, les risques de LNH associés à l'exposition au DDT ou lindane augmentaient avec le nombre total de jours d'exposition bien qu'aucune association ne soit observée en binaire (exposé/non exposé). Certaines associations entre substances actives et certains sous-types de lymphomes étaient observées mais reposaient sur un petit nombre de sujets exposés : lymphome folliculaire et lindane, diazinon.

À noter que la dernière analyse de la cohorte AHS centrée sur le glyphosate ne mettait pas en évidence d'élévation du risque avec les LNH ou ses principaux sous-types.

Enfin, dans la seule cohorte féminine en population générale publiée, les femmes de moins de 65 ans ayant appliqué au moins une fois des insecticides présentaient une élévation du risque de lymphome diffus à grandes cellules B. Ces résultats méritent d'être répliqués pour confirmer le lien entre l'exposition domestique aux insecticides et le risque de survenue des différents sous-types de LNH.

De même, une étude cas-témoins apporte de l'information sur l'exposition à 27 produits chimiques environnementaux corrélés, mesurés dans la poussière domestique : les résultats montraient une association positive entre l'index d'exposition mesuré et le risque de LNH et certains sous-types (lymphome folliculaire et lymphome de la zone marginale).

Enfin, il faut mentionner de nouveaux travaux étudiant le rôle de l'exposition professionnelle agricole aux pesticides sur le devenir du patient au cours de son traitement montrant que l'exposition professionnelle agricole aux pesticides était associée à un échec du traitement, à la survie sans évènement et à la survie globale des patients atteints de lymphome diffus à grandes cellules B.

L'ensemble des résultats renforce la présomption de lien entre la survenue de LNH et l'exposition aux pesticides qui reste forte, comme indiqué dans l'expertise de 2013.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et LNH

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Agriculteurs, applicateurs, ouvriers en industrie de production	++

++ d'après les résultats de sept méta-analyses et d'une cohorte prospective (AHS) en 2013 ; les nouvelles études ne modifient pas le niveau de présomption.

La synthèse concernant les familles et substances actives impliquées dans les excès de risque significatifs de survenue de LNH a été actualisée. Le niveau de présomption de lien a été mis à jour d'après les résultats des études publiées depuis 2013 et classé en niveaux de présomption fort, moyen et faible. Les niveaux de présomption qui étaient forts en 2013 restent inchangés (lindane, DDT, organophosphorés et malathion), en revanche les niveaux de preuve pour le diazinon et le chlordane sont plus élevés qu'en 2013 avec un passage au niveau fort pour le diazinon. La présomption d'un lien entre le glyphosate et le risque de LNH dans des populations d'agriculteurs passe à un niveau plus élevé (de faible à moyen). Pour le dicamba, un niveau de présomption faible est rapporté pour la première fois. Le niveau de présomption reste faible pour les substances actives suivantes : aldrine, atrazine, carbaryl, carbofuran, coumaphos, chlorpyrifos, MCPA, mécoprop, fonofos (non présentées dans le tableau).

Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque de LNH

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Lindane (isomère γ HCH)	Applicateurs, agriculteurs	++
HCH (mélange d'isomères)	Éleveurs	+
DDT	Agriculteurs Professionnels	++ +
Chlordane*	Agriculteurs	+
Dicamba	Agriculteurs	±
Organophosphorés		
Sans distinction	Agriculteurs Personnes exposées (professionnellement ou par usage domestique)	++ +
Terbufos	Applicateurs	+
Diazinon*	Agriculteurs	++
Malathion	Agriculteurs	++
Carbamates / Dithiocarbamates		
Sans distinction (carbamates)	Agriculteurs	+
Butilate	Applicateurs	+
Triazines		
Sans distinction	Ouvriers en industrie de production	+
Phénoxyherbicides non contaminés par les dioxines		
2,4-D	Agriculteurs	+
Aminophosphonate glycine		
Glyphosate*	Agriculteurs, professionnels	+

++ au moins une méta-analyse et au moins une étude de cohorte
+ au moins une étude de bonne qualité (cohorte et/ou plusieurs études cas-témoins)
± deux études cas-témoins positives mais une méta-analyse négative de trois cohortes Données nouvelles
* Matière active pour laquelle le niveau de présomption est passé à un niveau plus élevé par rapport à 2013

Des éléments de preuves étaient également décrits concernant des populations particulières chez qui un risque accru de LNH était observé pour des expositions à des familles ou substances particulières de pesticides. Il s'agissait en particulier des agriculteurs porteurs d'une translocation chromosomique t(14 ;18) mais aussi des agriculteurs présentant un antécédent d'asthme ou d'hémopathie maligne, il n'y a pas de changement par rapport aux conclusions de 2013 (tableau non présenté). En revanche, l'approche par sous-types de LNH qui s'est développée depuis 2013 a apporté des résultats intéressants concernant des hypothèses de lien entre certaines substances actives ou familles de pesticides avec des sous-types histologiques de LNH.

Un chapitre complet a été consacré aux mécanismes d'action des pesticides dans les hémopathies dans la précédente expertise et seuls quelques éléments de toxicologie seront abordés ici et concerneront les substances actives pour lesquelles l'analyse de la littérature épidémiologique a révélé des présomptions fortes de liens : malathion, diazinon (organophosphorés), DDT et lindane (organochlorés).

La précédente expertise collective avait conclu que certains organophosphorés sont des composés que l'on peut considérer comme génotoxiques et pro-oxydants en lien avec l'activation de certaines voies de signalisation impliquées dans la régulation de la prolifération et de la survie cellulaire. Des études récentes confirment que les mécanismes d'action du malathion et du diazinon sont principalement la production d'espèces réactives de l'oxygène associée à un état inflammatoire et à une génotoxicité. Les propriétés immunosuppressives potentielles du malathion pourraient être également à l'origine du développement d'hémopathies malignes. Des résultats récents suggèrent aussi des effets de perturbation endocrinienne pour le malathion, et des altérations des profils de méthylation de l'ADN pour le diazinon.

Concernant les organochlorés, l'expertise collective de 2013 avait conclu sur la base d'études menées sur plusieurs modèles cellulaires et en particulier dans les lymphocytes humains, que le DDT et son métabolite, le DDE, pouvaient être considérés comme des molécules pro-œstrogéniques et génotoxiques en partie par la production d'un stress oxydant. Des effets immunomodulateurs ont aussi été observés avec une inhibition de la fonction des cellules NK (*natural killer*), cellules du système immunitaire qui ont pour propriété de lyser les cellules tumorales. Ce type d'inhibition était aussi décrit pour le lindane. Une publication récente confirme son effet génotoxique. De plus, le lindane est susceptible d'induire un stress oxydant et d'activer les processus pro-apoptotiques dans des lymphocytes humains, ce qui est cohérent avec les effets immunosuppresseurs décrits pour le DDT.

Les effets mécanistiques des organochlorés (production d'un stress oxydant, apoptose et immunomodulation, génotoxicité) caractérisés dans la littérature à ce jour sont en faveur de la plausibilité d'une relation entre l'exposition chronique de ces composés et l'apparition d'hémopathies malignes. Par ailleurs, bien que ces composés soient potentiellement persistants, leur capacité à activer l'expression de cytochromes P450 (probablement par liaison à des récepteurs de xénobiotiques, également facteurs de transcription), pourrait modifier le métabolisme de nombreux organes dont le compartiment lymphocytaire et favoriser un phénotype tumoral. Cette hypothèse intéressante mériterait d'être investiguée.

Myélome multiple

Le myélome multiple (MM) est une des hémopathies malignes les plus fréquentes en France. Il est caractérisé par la présence d'une infiltration de la moelle osseuse par des plasmocytes, la présence d'une protéine monoclonale non IgM (sérique et/ou urinaire) et de lésions osseuses (lacunes à l'emporte-pièce ou déminéralisation osseuse). On estime à 5 442 le nombre de nouveaux cas de MM en France métropolitaine en 2018. Les taux d'incidence standardisés sur la population mondiale sont respectivement de 4,2 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 2,9 chez la femme (rapport hommes/femmes égal à 1,4). L'âge médian du MM au diagnostic est de 70 ans chez l'homme et de 74 ans chez la femme. Les taux d'incidence standardisés sur la population mondiale ont augmenté durant la période d'étude chez l'homme et la femme avec une variation annuelle moyenne de +1,1 % chez l'homme et +0,6 % chez la femme. Entre 1995 et 2018, le nombre de cas de MM est passé de 1 440 à 2 822 chez les hommes et de 1 510 à 2 620 chez les femmes. Cette augmentation, de 96 % chez l'homme et 74 % chez la femme, est attribuable aux changements démographiques pour respectivement 58 % et 43 % alors que 38 % et 31 % de l'augmentation sont attribuables au risque (dont une part est liée à l'amélioration du diagnostic, de l'accès aux soins ou liée aux facteurs de risque).

À partir des données de six méta-analyses et deux cohortes (AHS et cohorte nord-européenne), l'expertise collective Inserm de 2013 a conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition aux pesticides, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, chez les agriculteurs et les applicateurs de pesticides et le risque de survenue de MM. L'expertise de 2013 n'avait pas pu conclure à un excès de risque entre l'exposition à des substances actives et la survenue de MM.

Depuis l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, cinq méta-analyses ont été publiées, deux à partir de données de trois cohortes d'agriculteurs, une spécifiquement centrée sur l'exposition au glyphosate et deux analyses « poolées » d'études cas-témoins dont une abordant des expositions à des pesticides spécifiques (carbaryl, captane et DDT). Les deux méta-analyses réalisées à partir des données de trois cohortes de travailleurs agricoles retrouvent des associations modérées avec l'usage de certaines substances actives mais aucune association statistiquement significative n'est mise en évidence entre l'exposition à la plupart des familles ou substances étudiées et le risque de MM. En revanche, un risque significativement élevé chez les éleveurs de volailles ou de moutons a été observé. Ce risque avait été mis en évidence dans la cohorte AHS. Les deux analyses « poolées » du consortium *InterLymph* réalisées à partir d'études cas-témoins des années 1980 à 2000 réalisées

en population générale montraient que la profession de jardinier/ouvrier de pépinière était associée au risque de survenue d'un MM, à la limite de la significativité statistique (mais pas la profession d'agriculteur) et que les utilisations de carbaryl, de captane ou de DDT étaient toutes trois associées à un risque élevé de MM avec des risques statistiquement significatifs.

Concernant le glyphosate, une méta-analyse d'études cas-témoins montrait un risque élevé de MM statistiquement significatif chez les agriculteurs exposés au glyphosate sans hétérogénéité entre les études et sans identification de biais de publication. Cette association était robuste à plusieurs analyses secondaires. En revanche, la récente ré-analyse de la cohorte AHS ne mettait pas en évidence d'association entre l'exposition au glyphosate et le risque de MM.

La dernière analyse de la cohorte AHS mettait en évidence une association statistiquement significative entre l'exposition à la perméthrine et le risque de MM avec des risques qui augmentent avec l'exposition (p de tendance = 0,002).

La cohorte AGRICAN montrait un risque élevé de MM chez les agriculteurs et en particulier ceux ayant commencé à utiliser des pesticides sur les cultures dans les années 1960, sur le maïs, et ceux qui utilisaient des insecticides sur les animaux.

Enfin, une étude cas-témoins canadienne montrait des tendances positives du risque de MM avec le nombre de pesticides utilisés, pour les fongicides et les pesticides classés comme cancérogènes probables par le Centre international de recherche sur le cancer (Circ). Les hommes ayant déclaré utiliser au moins un pesticide carbamate, un phénoxyherbicide ou trois organochlorés ou plus avaient un risque accru de MM. L'herbicide mécoprop (utilisation supérieure à 2 jours par an) était également significativement associé au risque de MM.

En conséquence, la présomption d'un lien entre exposition professionnelle aux pesticides et MM reste forte car basée sur plusieurs méta-analyses de bonne qualité montrant des associations significatives.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et myélome multiple

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Agriculteurs, applicateurs	++
	Éleveurs	+

++ d'après les résultats de six méta-analyses et de deux cohortes prospectives (AHS et cohorte nord-européenne) en 2013 ; les nouvelles études ne modifient pas le niveau de présomption.
+ d'après les résultats d'une méta-analyse réalisée à partir de trois cohortes Données nouvelles

Le niveau de preuve pour distinguer les substances actives en lien avec le MM reste faible mais permet d'en retenir plusieurs, ce qui n'était pas le cas en 2013. L'exposition à la perméthrine est associée à un risque accru de MM, avec des risques qui augmentent avec l'exposition (tendance significative, AHS). Cette exposition entraîne des altérations des paramètres hématologiques pouvant indiquer une hématopoïèse perturbée, ce qui apporte des arguments à la plausibilité biologique de l'association observée entre l'utilisation de perméthrine et le risque de MM chez les applicateurs de pesticides. On peut noter une association positive avec le glyphosate dans une méta-analyse (études cas-témoins) qui n'est cependant pas retrouvée dans la méta-analyse des trois cohortes d'agriculteurs (États-Unis, France, Norvège), ni la dernière analyse de la cohorte AHS. On peut citer des associations avec le carbaryl, le captane et le DDT qui reposent uniquement sur une étude cas-témoins bien faite. Pour ces molécules la présomption de lien est considérée comme faible (±).

Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque de myélome multiple

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Organochlorés		
DDT	Population générale	±
Carbamates		
Carbaryl	Population générale	±
Pyréthrinoïdes		
Perméthrine	Applicateurs	+
Aminophosphonate glycine		
Glyphosate	Agriculteurs	± [a]
Autres		
Captane	Population générale	±

+ d'après les résultats d'une cohorte en 2013, confirmé au suivi (AHS) Données nouvelles
± d'après les résultats d'une analyse « poolée » de trois études cas-témoins Données nouvelles
± [a] d'après les résultats d'une méta-analyse de trois études cas-témoins et deux analyses de la cohorte AHS qui se recoupent Données nouvelles

Lymphome de Hodgkin

Le lymphome de Hodgkin est une maladie qui atteint les ganglions superficiels ou profonds sur lesquels l'histologie affirme le diagnostic d'une prolifération monoclonale de lymphocytes B composée en proportion variable de cellules mononucléées de Hodgkin, de cellules plurinucléées de Reed-Sternberg, au sein d'un infiltrat réactionnel composite. Le lymphome de

Hodgkin représente environ 10 % des lymphomes avec un nombre de nouveaux cas en 2018 estimé en France à 2 130 cas. Les taux d'incidence standardisés sur la population mondiale sont respectivement de 3,7 et 2,7 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et la femme en 2018 en France métropolitaine (rapport hommes/femmes égal à 1,4). L'âge médian de survenue du lymphome de Hodgkin est de 33 ans chez la femme et de 38 ans chez l'homme. Les taux d'incidence augmentent entre 1990 et 2018 de 1,2 % en moyenne par an chez l'homme et de 1,7 % chez la femme. La majeure partie de cette tendance à la hausse est attribuable à une augmentation du risque alors qu'une faible partie est attribuable à des changements démographiques.

À partir des données de quatre méta-analyses et d'une cohorte prospective, l'expertise collective Inserm de 2013 a conclu à la présomption faible d'un lien entre le risque de survenue de lymphome de Hodgkin et l'exposition aux pesticides, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, dans le secteur professionnel agricole. L'expertise de 2013 n'avait pas pu conclure à un excès de risque entre l'exposition à des substances actives et la survenue de lymphome de Hodgkin.

La littérature scientifique publiée depuis 2013 est peu abondante avec seulement trois études. Une méta-analyse (basée sur deux études cas-témoins) et une mise à jour de la cohorte AHS, toutes deux centrées sur l'exposition au glyphosate et basées sur des effectifs faibles, qui ne montrent aucune association avec l'exposition au glyphosate. La troisième étude est une étude cas-témoins canadienne en population générale ; elle montre une association avec le chlorpyrifos et repose également sur de faibles effectifs. Une seconde analyse de cette étude rapporte un risque élevé de lymphome de Hodgkin associé à l'utilisation d'au moins trois pesticides classés comme « probablement cancérogènes » chez l'être humain par le Circ. Enfin, le risque chez les sujets de moins de 40 ans ayant déclaré avoir utilisé deux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase était également augmenté significativement.

En conséquence, la présomption d'un lien entre exposition professionnelle aux pesticides et lymphome de Hodgkin n'est pas modifiée par rapport à 2013.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et lymphome de Hodgkin

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Professionnels du secteur agricole	±

± d'après les résultats de quatre méta-analyses et d'une cohorte prospective (AHS) en 2013 ; et d'une méta-analyse (deux études cas-témoins), de la mise à jour de la cohorte AHS et d'une étude cas-témoins canadienne ; les données nouvelles ne modifient pas le niveau de présomption par rapport à 2013.

Leucémies

Les leucémies sont des prolifération monoclonales de cellules du tissu hématopoïétique (tel que la moelle osseuse), bloquées à différents stades de différenciation et circulant dans le sang. Le type de leucémie dépend du type de cellule sanguine transformée (lymphoïde/myéloïde) et de la croissance rapide ou lente de cette dernière (leucémie aiguë ou chronique). Au sein de chaque groupe de leucémies (lymphoïde ou myéloïde), de nombreux sous-types sont identifiés selon des données morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cliniques.

La leucémie survient le plus souvent chez les adultes de plus de 55 ans, mais il s'agit également du cancer le plus répandu chez les enfants de moins de 15 ans (voir chapitre « Cancers de l'enfant »). Les deux types les plus fréquents de leucémie sont la leucémie lymphoïde chronique regroupée aujourd'hui avec le lymphome lymphocytique (LLC/LL) en une seule entité (incidence standardisée sur la population mondiale en France en 2018 respectivement 4 et 2 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et la femme ; 4 700 nouveaux cas en 2018) et la leucémie aiguë myéloïde (LAM) (respectivement 3 et 2 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et la femme en 2018 en France ; 3 450 nouveaux cas en 2018). D'autres formes sont plus rares comme la leucémie/lymphome lymphoblastique à cellules précurseurs (900 nouveaux cas en France en 2018), la leucémie myéloïde chronique (870 nouveaux cas en 2018), ou la leucémie à tricholeucocytes (300 nouveaux cas en 2018). Les tendances de l'incidence sont à la hausse pour la leucémie aiguë myéloïde (variation annuelle moyenne d'environ 1 % dans les deux sexes) et la leucémie à tricholeucocytes chez l'homme (cette leucémie rare étant 5 fois plus fréquente chez l'homme que chez la femme).

À partir des données de sept méta-analyses et d'une cohorte prospective, l'expertise collective Inserm de 2013 a conclu à la présomption moyenne d'un lien entre l'exposition aux pesticides, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, chez les agriculteurs, les applicateurs et les ouvriers de l'industrie de production, et le risque de survenue de leucémies. L'approche par familles chimiques avait permis d'identifier les substances

actives potentiellement concernées, principalement des organochlorés et organophosphorés (tableau ci-dessous).

Depuis 2013, trois méta-analyses ont été publiées : deux réalisées à partir des données combinées de trois cohortes d'agriculteurs (AHS, AGRICAN, CNAP), la troisième s'adressant spécifiquement à l'exposition au glyphosate (trois études cas-témoins). Deux mises à jour de la cohorte AHS ont été publiées, l'une porte sur un large panel de substances actives tandis que l'autre est focalisée sur l'exposition professionnelle au glyphosate. Enfin, les analyses « poolées » réalisées dans le cadre du consortium *InterLymph* portent sur les principaux facteurs de risque de leucémies lymphoïdes (leucémie lymphoïde chronique, leucémie aiguë lymphoblastique, leucémie à tricholeucocytes) analysés simultanément parmi lesquels la profession d'agriculteur.

Au regard des résultats de ces études, qui rapportent toutes des associations entre le métier d'agriculteur et/ou l'utilisation de substances particulières et le risque de leucémies, la présomption d'un lien entre exposition professionnelle aux pesticides et leucémies reste moyenne.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et leucémies

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Agriculteurs, applicateurs, ouvriers en industrie de production	+

+ d'après les résultats de sept méta-analyses et d'une cohorte prospective (AHS) en 2013, et de deux méta-analyses supplémentaires ; les données nouvelles ne modifient pas le niveau de présomption par rapport à 2013.

Chacune des études publiées depuis 2013 distingue le type de leucémie étudiée et porte principalement sur les plus fréquentes (LLC/LL, leucémie aiguë lymphoblastique) mais aussi sur des sous-types plus rares, anciennement étudiés, comme la leucémie à tricholeucocytes. Des éléments de preuve sont observés concernant la LLC/LL : une association avec l'exposition professionnelle à la deltaméthrine à partir d'une méta-analyse de trois cohortes (sans information sur un éventuel effet-dose) ; une association avec le terbufos avec une tendance à une augmentation du risque avec le nombre total de jours d'exposition (cohorte AHS) ; une association avec le DDT chez les plus fortement exposés (cohorte AHS). La majorité des associations identifiées repose sur un faible nombre de personnes exposées. Aucune association n'est observée avec le glyphosate ni avec la plupart des substances évaluées. Concernant le risque de leucémie aiguë myéloïde, une association positive avec l'utilisation de glyphosate est suggérée (cohorte AHS). Malgré des effectifs faibles liés à la rareté de la leucémie à tricholeucocytes, le risque d'occurrence de ce type de leucémie est augmenté chez les agriculteurs et chez ceux

qui ont été exposés au glyphosate, mais sans atteindre la significativité statistique (niveau de présomption faible ±).

Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque de leucémies

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Organochlorés (sans distinction)	Applicateurs	+
Lindane	Applicateurs	+
DDT	Applicateurs	+
Heptachlore	Applicateurs	+
Chlordane + heptachlore	Applicateurs	+
Toxaphène	Agriculteurs	+
Organophosphorés		
Chlorpyrifos	Applicateurs	+
Diazinon	Applicateurs	+
Fonofos	Applicateurs	+
Malathion	Agricultrices	+
Terbufos	Applicateurs	+
Carbamates/Thiocarbamates /Dithiocarbamates		
S-éthyl-dipropylthiocarbamate (EPTC)	Applicateurs	+
Mancozèbe	Agriculteurs	+
Pyréthrinoïdes		
Deltaméthrine	Agriculteurs	+ [a]
Chloroacétanilides		
Alachlore	Ouvriers en industrie de production	+
Aminophosphonate glycine		
Glyphosate	Applicateurs	±

+ d'après les résultats d'une cohorte ou d'une étude cas-témoins nichée.
+ [a] d'après les résultats de la méta-analyse de trois cohortes d'agriculteurs (Agricoh) Données nouvelles
± d'après les résultats d'une étude de cohorte (AHS) Données nouvelles

Cancer de la prostate

Cette glande est sujette, comme de nombreux autres organes, à une transformation tumorale qui se révèle être dans la très grande majorité des cas un adénocarcinome résultant de la transformation tumorale des cellules de l'épithélium glandulaire.

Le cancer de la prostate est de nos jours la pathologie tumorale non-cutanée la plus fréquente dans les pays développés chez l'homme. Son taux d'incidence a augmenté de manière régulière au cours des dernières décennies dans l'ensemble de ces pays. Depuis quelques années, dans certains pays et régions où l'incidence avait le plus augmenté, on assiste à une moindre progression, voire à une stabilisation ou à une diminution de l'incidence (- 3,5 % par an entre 2010 et 2015 en France). De telles variations pourraient correspondre à la conjonction de deux phénomènes : la plus grande partie des cancers avancés ont déjà été diagnostiqués après plusieurs années de dépistage, et des stratégies plus attentistes de la part des soignants et de la population vis-à-vis du dépistage avec la prise de conscience d'un risque de « sur-diagnostic ».

L'étiologie du cancer de la prostate est en grande partie inconnue. Néanmoins, un certain nombre de facteurs de risque sont bien identifiés. Il s'agit de l'âge, de la présence d'antécédents familiaux de cancer de la prostate et des origines ethno-géographiques.

L'expertise collective Inserm 2013 avait conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition aux pesticides dans des circonstances d'usage professionnel, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, chez les agriculteurs, les applicateurs de pesticides et les ouvriers de l'industrie de production de pesticides, et un risque accru de survenue du cancer de la prostate.

De nouveaux travaux publiés depuis 2013 confirment que les populations exerçant une activité professionnelle dans le secteur agricole sont plus à risque de développer un cancer de la prostate que la population générale.

Ces travaux récents en épidémiologie confortent donc les conclusions de 2013 sans qu'aucune conclusion supplémentaire ne puisse être avancée concernant les catégories de pesticides impliqués selon leurs cibles d'emploi (insecticides, fongicides, herbicides...) ou leurs familles chimiques d'appartenance.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et cancer de la prostate

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Agriculteurs, applicateurs, ouvriers en industrie de production	++

++ d'après les résultats de six méta-analyses et une étude de cohorte prospective (AHS) en 2013 ; les nouvelles études ne modifient pas le niveau de présomption.

Pour ce qui concerne les substances actives de la famille des organophosphorés, l'étude de cohorte AHS renforce le rôle, déjà suggéré lors de l'expertise collective Inserm 2013, de l'insecticide fonofos dans la survenue du

cancer de la prostate chez les agriculteurs (associations positives uniquement chez les sujets déclarant des antécédents familiaux de cancer de la prostate ainsi que chez les sujets porteurs d'une forme agressive de la maladie au diagnostic). D'autres insecticides de cette famille, le terbufos et le malathion, ont été récemment associés chez les agriculteurs à un risque augmenté de survenue du cancer de la prostate, mais uniquement chez les sujets porteurs d'une forme agressive de la maladie au moment du diagnostic. Aucune nouvelle publication n'a concerné les autres organophosphorés potentiellement impliqués en 2013 dans la survenue du cancer de la prostate chez les agriculteurs ou en population générale.

Pour les substances actives de la famille des organochlorés, en 2013, les études sur l'exposition à l'insecticide DDT (ou le DDE, son principal métabolite) et le risque de survenue du cancer de la prostate étaient contradictoires. Une nouvelle étude cas-témoins en population générale réalisée à la Guadeloupe, couplée à une mesure de l'exposition par le dosage de la molécule dans le sang, a montré qu'il était associé positivement au risque de survenue de cancer de la prostate avec une relation dose-effet significative. Une autre étude suggère également le rôle du *trans*-nonachlore, un composé minoritaire de l'insecticide chlordane, en population générale. Comme pour les trois organophosphorés (fonofos, terbufos et malathion), l'aldrine a été associée chez les agriculteurs à un risque augmenté de survenue du cancer de la prostate, mais uniquement chez les sujets porteurs d'une forme agressive de la maladie au moment du diagnostic. Aucune nouvelle donnée n'a été identifiée pour la dieldrine, le β-HCH ou le chlordane qui restent à un niveau de présomption faible (±, non inclus dans le tableau). Notons finalement que de nombreuses substances actives n'ont toujours pas fait l'objet d'études épidémiologiques concernant leur lien avec le cancer de la prostate, en particulier les fongicides.

D'un point de vue mécanistique, la grande majorité des études ont été réalisées sur des insecticides organochlorés, la plupart retirés du marché en France mais qui sont toujours persistants dans l'environnement. Ces études montrent que le β-HCH et le DDT/DDE présentent notamment des capacités à interagir sur la régulation hormonale de la prostate, ce qui rend biologiquement plausibles les associations observées dans les études épidémiologiques en lien avec la survenue du cancer de la prostate.

Pour quelques substances actives moins persistantes (paraquat, glyphosate, cyperméthrine, 2,4-D, atrazine, bénomyl, vinclozoline, prochloraze, chlorpyrifos-méthyl et les fongicides cyprodinil, fenhexamide, fludioxonil), pour lesquelles les études épidémiologiques n'ont pas montré d'association avec le cancer de la prostate ou n'ont pas fait encore l'objet d'études épidémiologiques, il existe des

données mécanistiques compatibles avec ou suggérant une implication dans le développement du cancer de la prostate.

Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque du cancer de la prostate

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Aldrine	Agriculteurs porteurs de forme agressive	+ [a]
Chlordécone*	Population générale	++
DDE	Population générale	+ [b]
Organophosphorés		
Coumaphos	Agriculteurs avec antécédents familiaux de cancer de la prostate	+ [c]
Fonofos	Agriculteurs avec antécédents familiaux de cancer de la prostate	+ [c]
	Agriculteurs porteurs de forme agressive	+ [a]
Malathion	Agriculteurs porteurs de forme agressive	+ [a]
Terbufos	Agriculteurs porteurs de forme agressive	+ [a]
Carbamates/ Thiocarbamates/Dithiocarbamates		
Butilate	Agriculteurs	+ [c]
Carbofuran	Agriculteurs avec antécédents familiaux de cancer de la prostate	+ [c]
Pyréthrinoïdes		
Perméthrine	Agriculteurs avec antécédents familiaux de cancer de la prostate	+ [c]

++ d'après les résultats d'une étude cas-témoins avec une caractérisation par des marqueurs biologiques de l'exposition en 2013 et d'une étude prospective ; renforce le résultat de 2013

+ [a] d'après les résultats de la cohorte AHS Données nouvelles ; + [b] d'après les résultats d'études cas-témoins contradictoires en 2013, et une étude cas-témoins avec une caractérisation par des marqueurs biologiques de l'exposition Données nouvelles ; + [c] d'après les résultats d'une étude cas-témoins nichée dans la cohorte AHS en 2013

* voir « Focus sur le chlordécone » ci-dessous

Focus sur le chlordécone

Aux Antilles françaises, le chlordécone a été employé pour lutter contre le charançon du bananier de 1973 à 1993 alors qu'au niveau mondial son utilisation s'est arrêtée en 1976 lorsque l'usine de production aux États-Unis a fermé. On estime à près de 6 000 tonnes de formulation commerciale (à 300 tonnes de substance active) la quantité employée et épandue aux Antilles. L'emploi du chlordécone aux Antilles a entraîné une pollution persistante des sols et les résultats des travaux de l'Inra ont montré, pour toutes les espèces animales étudiées, une contamination particulièrement

élevée en chlordécone (atteignant jusqu'à plusieurs dizaines de mg par kg de poids corporel). On estime qu'au moins un tiers des surfaces agricoles (20 000 hectares) et près de la moitié des ressources en eau douce et du littoral marin sont pollués par le chlordécone. Les surfaces agricoles polluées correspondent pour l'essentiel à des soles bananières existantes sur la période 1973-1993.

Confirmant la forte capacité du chlordécone à se bioaccumuler tout le long de la chaîne trophique, la contamination des populations résidentes aux Antilles a été documentée. Le dosage du chlordécone a permis de détecter la molécule dans diverses matrices (sang, graisses, lait). Dans le sang, les taux de détection pouvaient atteindre 90 % avec des concentrations jusqu'à plusieurs dizaines de µg/l. L'exposition a été principalement reliée à la consommation d'aliments d'origine locale eux-mêmes contaminés (principalement légumes racines, viandes, poissons).

En Guadeloupe et en Martinique, le taux d'incidence du cancer de la prostate (standardisé sur l'âge de la population mondiale) est respectivement de 173 et de 164 pour 100 000 personnes-années sur la période 2007-2014. Ce taux d'incidence aux Antilles est près de deux fois supérieur au taux d'incidence estimé en France métropolitaine sur la même période (88,8 pour 100 000 personnes-années) mais peut s'expliquer par les origines subsahariennes de la population, groupe ethno-géographique qui présente un risque élevé de développer la maladie.

En raison de la fréquence du cancer de la prostate aux Antilles et des propriétés neurotoxiques, toxiques pour la reproduction, cancérogènes, de perturbation endocrinienne du chlordécone, des études épidémiologiques ont été entreprises ces dernières années aux Antilles pour identifier les risques sanitaires.

L'expertise collective de 2013 avait estimé qu'il existait une présomption forte d'un lien entre l'exposition au chlordécone et le risque de survenue du cancer de la prostate. Cette évaluation était basée sur l'étude cas-témoins Karuprostate réalisée en Guadeloupe au cours de la période 2004 à 2007 montrant un excès de risque de cancer de la prostate avec une relation dose-réponse, mais également sur les principales études portant sur les modes d'action biologiques de la molécule. Une nouvelle étude publiée en 2019, issue de la même population de cas incidents présente dans l'étude cas-témoins Karuprostate et s'adressant de manière prospective à un évènement de santé autre que celui de la survenue du cancer, a montré que l'exposition au chlordécone était associée à un excès de risque, avec une relation

dose-réponse, de récidive biologique de la maladie après traitement par prostatectomie radicale.

Une analyse détaillée a été réalisée sur l'ensemble des données toxicologiques et mécanistiques existantes sur le chlordécone ainsi que ses relations avec les mécanismes de la cancérogenèse, notamment prostatique. Elle soutient le rôle du chlordécone comme promoteur tumoral et sa capacité à intervenir dans les processus qui favorisent le développement et la progression tumorale. Cela rend biologiquement plausibles les associations observées entre le chlordécone et le cancer de la prostate. En accord avec les conclusions de l'expertise collective de 2013 et à la lumière des données scientifiques existantes à ce jour, il apparaît que la relation causale entre l'exposition au chlordécone et le risque de survenue du cancer de la prostate est vraisemblable.

Cancer du sein

La grande majorité des cancers du sein sont des adénocarcinomes qui se développent à partir des cellules épithéliales tapissant les canaux de la glande mammaire. Le taux d'incidence de ce cancer chez la femme en France est d'environ 100 cas pour 100 000 personnes-années (58 459 nouveaux cas en 2018), et il varie selon l'âge avec un maximum entre 70 et 74 ans. Alors que le cancer du sein est au premier rang des décès par cancer chez la femme, les taux de mortalité montrent une diminution moyenne annuelle de 1,3 % entre 1990 et 2018, ce qui pourrait s'expliquer par l'amélioration des traitements ainsi que par le dépistage permettant un diagnostic de la maladie à des stades plus précoces et donc curables. Son étiologie est en grande partie inconnue. Cependant, des facteurs de risque ont été identifiés : facteurs hormonaux ou reproductifs (par exemple la prise de certains traitements hormonaux, l'âge des premières règles, de la première grossesse ou de la ménopause), consommation d'alcool, de tabac, surpoids et sédentarité. La présence d'antécédents familiaux de cancers, notamment ceux dits « hormonodépendants » (sein, ovaire), est également un facteur de risque.

Les premières études épidémiologiques portant sur l'exposition aux pesticides et le risque de cancer du sein datent des années 1990 et concernaient l'insecticide organochloré, le DDT et son principal métabolite, le DDE. L'implication de ces composés, généralement considérés comme non génotoxiques, dans le processus cancérogène a suscité de nombreuses études sur l'exposition aux pesticides dans la survenue du cancer du sein. Des études portant sur l'exposition professionnelle chez des femmes travaillant dans le secteur agricole ont montré soit une augmentation soit une diminution du risque relatif

par rapport à la population générale. D'autres ont examiné des circonstances d'exposition environnementale, liée à la proximité résidentielle de zones agricoles, notamment aux insecticides organochlorés. Alors qu'une étude de cohorte a montré un risque accru en lien avec l'exposition au DDT avant l'âge de 20 ans (à une époque où l'utilisation mondiale de cette substance était maximale), deux méta-analyses d'une cinquantaine d'articles publiés jusqu'en 2013, utilisant principalement le DDE comme un indicateur d'exposition, n'ont pas montré d'excès de risque significatif du cancer du sein en lien avec l'exposition environnementale au DDT.

Les données disponibles en 2013, qui ont été analysées dans la précédente expertise collective de l'Inserm[9], n'ont pas permis de conclure sur le lien éventuel entre l'exposition professionnelle ou environnementale aux pesticides et le risque de survenue d'un cancer du sein. Depuis, la littérature scientifique s'est enrichie et il était important d'examiner à nouveau cette question dans la présente expertise collective.

Concernant l'exposition professionnelle, une série de trois articles basés sur la cohorte américaine *Agricultural Health Study* (AHS) ont examiné le risque de survenue de cancer du sein chez environ 30 000 conjointes d'agriculteurs ou utilisatrices de pesticides. Aucune association n'a été retrouvée en lien avec l'utilisation des pesticides organochlorés (7 au total), sauf pour la dieldrine dans le cas de tumeurs dont les récepteurs hormonaux aux œstrogènes et à la progestérone sont négatifs (ER- PR-). Un deuxième article, portant sur l'usage d'insecticides organophosphorés, a mis en évidence une augmentation de risque du cancer du sein. Parmi les 8 substances actives analysées, seul le chlorpyrifos était associé à une augmentation de risque à la limite de la signification statistique et d'autant plus élevé en cas de tumeur ER- PR-. Un suivi ultérieur sur plus de mille cas incidents de cancer du sein dans la cohorte AHS a confirmé un lien avec le chlorpyrifos et a également retrouvé une association du même ordre avec le terbufos.

D'autres études se sont intéressées au risque de la survenue du cancer du sein en relation avec l'exposition environnementale aux pesticides. Quatre publications ont mis en évidence des augmentations du risque statistiquement significatives (OR entre 1,4 et 3,2) chez les femmes résidant à une distance inférieure à 2 km d'une zone d'activité agricole ou industrielle ayant recours à des pesticides. À noter que ces études n'apportent aucune information sur les substances actives concernées (sauf pour le chlorpyrifos, dans une étude) et elles reposent sur des évaluations d'exposition peu précises.

9. Voir le chapitre sur le cancer du sein dans la section « Communications » de l'expertise collective de l'Inserm « Pesticides : Effets sur la santé », publiée en 2013.

Une dizaine d'études cas-témoins ont exploré le risque de survenue du cancer du sein en lien avec les concentrations sanguines en pesticides organochlorés. La majorité de ces études, portant sur des faibles effectifs, rapportent des résultats discordants ou à la limite de la signification statistique. Cependant, deux études sont intéressantes car elles montrent que l'exposition environnementale au DDE ou DDT semblent influencer la survie du cancer du sein. Portant respectivement sur 633 et 748 cas incidents, ces études ont retrouvé un excès de décès spécifique par cancer du sein à 5 ans pour le tercile d'exposition au DDT le plus élevé et à 20 ans pour le quartile d'exposition au DDE le plus élevé. Pour cette dernière étude, le risque était encore plus élevé dans les cas de tumeurs ER-.

La majorité des études épidémiologiques conduites à ce jour a porté sur des périodes d'exposition à l'âge adulte et où la mesure des expositions a eu lieu après le bannissement du DDT (1972 aux États-Unis). La question de la période d'exposition aux pesticides en lien avec le risque de survenue du cancer du sein a été explorée par plusieurs nouvelles publications aux États-Unis, s'intéressant aux expositions à un âge plus jeune (moins de 20 ans), en particulier pour l'insecticide DDT. Une première étude a mis en évidence un excès de risque du cancer du sein pendant la période de transition de la ménopause (50 à 54 ans) chez les femmes directement exposées au DDT (avant 1972) et ayant plus de 14 ans en 1945 (date de début de l'emploi du DDT). Une autre étude, portant sur plus de 2 000 femmes atteintes de cancer du sein, n'a pas trouvé de lien entre le cancer et l'exposition aux pesticides pendant l'enfance et l'adolescence (avant 14 ans), quel que soit le statut hormonal de la tumeur. Cependant, un excès de risque a été montré chez les femmes qui avaient moins de 18 ans en 1972. Enfin, l'exposition maternelle au DDT avant 1972 pendant la grossesse, était associée chez les filles à un excès de risque de survenue de cancer du sein (OR = 3,7) pour le quartile d'exposition le plus élevé après ajustement sur les autres composés organochlorés. Les données récentes constatent toujours l'influence d'une exposition pendant la grossesse ou autour de la puberté dans la survenue d'un cancer du sein avant la ménopause ou pendant la période préménopausique. Il est à noter que dans ces études, les périodes d'âges d'exposition coïncident avec les années où l'utilisation du DDT dans le monde était très élevée. Restent donc deux questions en suspens : Est-ce que ces périodes d'exposition critiques le sont toujours de nos jours dans la mesure où les niveaux d'exposition au DDT (ou à ses métabolites tels que le DDE) ont fortement diminué ? Est-ce que ces périodes d'exposition seraient également critiques au regard d'autres pesticides ? Le manque d'études ne permet malheureusement pas d'y répondre.

Les études épidémiologiques publiées ces dernières années, prises dans leur ensemble, n'apportent pas d'éléments supplémentaires permettant de réviser les conclusions de la précédente expertise collective de l'Inserm selon laquelle il n'est pas possible d'établir de liens convaincants entre l'exposition professionnelle ou environnementale à des pesticides et la survenue du cancer du sein. Néanmoins, de nouveaux travaux issus de la cohorte AHS ont montré que l'exposition professionnelle à des insecticides organophosphorés, notamment le chlorpyrifos, et dans une moindre mesure le terbufos et le coumaphos, pourrait être associée à un risque augmenté de cancer du sein. Ces associations, à la limite de la signification statistique, mériteraient d'être confirmées par des études complémentaires. Cette analyse critique de la littérature a été étendue au cancer du sein masculin, mais aucune association n'a été retrouvée en lien avec l'exposition aux pesticides en milieu professionnel dans les quelques études épidémiologiques qui ont abordé cette question.

S'agissant des aspects mécanistiques issus d'études expérimentales, le DDT comme la plupart des organochlorés ont un potentiel œstrogénique démontré expérimentalement. Or, les cellules cancéreuses mammaires exprimant le récepteur aux œstrogènes alpha, ont une prolifération stimulée en cas de liaison d'agonistes à cette protéine. D'autres mécanismes stimulés par les organochlorés autres que ceux passant par les récepteurs aux œstrogènes ont été par ailleurs décrits dans les cellules mammaires (altération des communications cellulaires, résistance à l'apoptose...). Cela confère une certaine plausibilité biologique aux études épidémiologiques portant sur le DDT à des périodes où ce pesticide était employé et où les expositions des populations étaient importantes.

Pour ce qui concerne les insecticides organophosphorés, notamment le chlorpyrifos, les études mécanistiques divergent en fonction des doses employées. À de fortes doses, de faibles effets œstrogéniques, voire aucun, sont observés. À l'inverse, à de faibles doses des effets pro-œstrogéniques sont constatés par des mécanismes impliquant une stimulation du ERα mais sans liaison directe au récepteur et plutôt par des modifications post-traductionnelles. Ces éléments, susceptibles d'argumenter la plausibilité biologique aux associations observées dans les quelques études épidémiologiques concernant le chlorpyrifos, sont encore peu nombreux et mériteraient d'être investigués plus en détail.

Familles et substances actives associées à un excès de risque du cancer du sein

Famille Substances actives	Populations	Présomption d'un lien
Organochlorés		
DDT	Population générale, exposition pendant la période prénatale ou avant 18 ans*	+
Organophosphorés		
Chlorpyrifos	Professionnels exposés en milieu agricole	± [a]
Terbufos	Professionnels exposés en milieu agricole	± [b]

+ d'après les résultats de deux études de cohorte Données nouvelles
± [a] d'après les résultats d'une étude de cohorte avec confirmation au suivi (AHS) Données nouvelles
± [b] d'après les résultats d'une étude de cohorte (AHS) Données nouvelles
* avant le bannissement du DDT

Cancers de la vessie et du rein

Les cancers de la vessie et du rein représentent en France respectivement environ 16 000 et 15 000 nouveaux cas par an, ce qui les situe aux 5e et 6e rangs parmi l'ensemble des localisations de cancer. Vingt à trente pour cent des cas de cancer de la vessie sont des tumeurs infiltrantes tandis qu'un tiers des cancers du rein se présentent d'emblée lors du diagnostic avec des métastases. La survie à 5 ans de ces cancers est de l'ordre de 75 %. Ils sont tous deux plus représentés chez les hommes, avec des sex-ratios de six hommes pour une femme pour le cancer de la vessie et de deux hommes pour une femme pour le cancer du rein.

Ces deux cancers sont très liés au tabagisme ainsi qu'aux rayonnements ionisants. Le cancer de la vessie a été associé à certains secteurs d'activité, notamment la production de colorants, d'aluminium, de caoutchouc et la peinture industrielle. En effet, de nombreuses substances utilisées dans ces secteurs professionnels, telles que les amines aromatiques et les hydrocarbures aromatiques polycycliques, ont été associées avec un fort niveau de preuve à ce cancer. Le cancer du rein a été associé pour sa part, à un indice de masse corporelle élevé, à l'hypertension artérielle, et au trichloroéthylène.

Sur le plan biologique, la survenue du cancer de la vessie s'expliquerait par le contact des substances et des métabolites avec la muqueuse vésicale, qui par leur réactivité, seraient susceptibles d'établir des liaisons covalentes avec l'ADN et de former des adduits, un processus qui est reconnu comme une étape de la cancérogénèse. Des susceptibilités génétiques interindividuelles reposant sur des différences d'expression, d'inductibilité ou d'activité d'enzymes participant à la bioactivation ou à la détoxification expliqueraient également en partie la survenue de ce cancer. Par ailleurs, de nombreuses altérations génétiques, plutôt liées à la prolifération cellulaire ou l'instabilité

du génome, et épigénétiques ont été impliquées dans la formation des tumeurs de la vessie, selon des processus variables pour les tumeurs superficielles ou infiltrantes. Les mécanismes conduisant au cancer du rein, en particulier au carcinome rénal à cellules claires – la forme la plus fréquente – seraient plutôt de nature épigénétique que mutationnelle, impliquant notamment les voies de signalisation et les voies impliquées dans la transition épithélio-mésenchymateuse, mais aussi possiblement des modifications environnementales telles que l'hypoxie. Le carcinome rénal à cellules claires est caractérisé par l'inactivation du gène suppresseur de tumeur *VHL*, qui régule les réponses adaptatives à l'hypoxie. Les étapes de cancérogénèse reposent entre autres sur l'angiogenèse, l'assemblage de la matrice extracellulaire, la ciliogenèse, la stabilisation des microtubules, la sénescence et la réparation de l'ADN. Les données actuelles suggèrent toutefois que l'inactivation de *VHL* n'est pas suffisante pour initier le cancer rénal. Une mutation de gène *PBRM1*, un composant du complexe SWI/SNF de remodelage de la chromatine, serait également impliquée dans la cancérogénèse.

Les premières études portant sur la survenue du cancer de la vessie en milieu agricole, menées dès les années 1980, montraient généralement une moindre incidence et une moindre mortalité qu'en population générale. Les diminutions de risque étaient de l'ordre de 15 à 20 %. Le cancer du rein n'était pour sa part que rarement étudié, et les résultats étaient peu concordants entre les études. Cependant, celles-ci, en majorité de nature rétrospective, ne prenaient souvent pas en compte le tabagisme et reposaient sur des estimations imprécises de l'exposition aux pesticides. Aussi, compte tenu de la force du lien entre le tabagisme et le cancer de la vessie, l'association négative observée entre la profession d'agriculteur et le cancer de la vessie pouvait s'expliquer, au moins en partie, par le moindre tabagisme observé de manière répétée en population agricole, en particulier dans les études portant sur des chefs d'exploitation. Cependant, comme pour le cancer du poumon, ces résultats ne permettaient pas d'exclure l'existence de facteurs de risque de cancer des voies urinaires en agriculture, et notamment un éventuel rôle des pesticides.

Une méta-analyse a été publiée en 2016 concernant les effets des pesticides sur le risque de cancer de la vessie. Elle a inclus 9 articles, dont 7 études cas-témoins et 2 études écologiques menées entre 1977 et 2011, et calculé un risque combiné de 1,65 ; IC 95 % [1,22-2,22], mais avec une hétérogénéité importante entre les études. Cependant, cette méta-analyse n'était pas exhaustive : une vingtaine d'études ont été au total menées, dont deux cohortes prospectives, deux cohortes rétrospectives et une quinzaine d'études cas-témoins dont 8 concernaient des expositions professionnelles.

Ainsi, en plus des études prises en compte dans cette méta-analyse, deux cohortes prospectives, l'*Agricultural Health Study* et AGRICAN, ont produit des connaissances sur le cancer de la vessie. La cohorte américaine, à partir de 321 cas incidents a montré des associations positives significatives avec certains herbicides (bentazone, bromoxynil, chlorambène, diclofop-méthyl, imazaquine, 2,4,5-T, imazéthapyr) et certains insecticides (DDT, aldicarbe, carbofuran, chlordane, toxaphène, fonofos, perméthrine) ainsi que des tendances avec d'autres molécules (2,4-D, glyphosate). Dans la cohorte française, le lien entre le cancer de la vessie et l'exposition aux pesticides renseignée par le type d'activités agricoles a été étudié à partir de 179 cas incidents. Le risque est apparu significativement élevé chez les cultivateurs, en lien avec la durée de l'activité sur les cultures au cours de la vie, approchant un quadruplement de risque chez les femmes cultivatrices, et un triplement chez les hommes cultivateurs non-fumeurs. Le travail sous serres et sur la culture de pois tendait à augmenter le risque, notamment lorsque les personnes déclaraient utiliser des pesticides, de même que les activités de ré-entrée en vignes.

La première cohorte rétrospective, menée en Colombie-Britannique (Canada), portait sur des ouvriers de scierie et analysait sur la période 1950-1995 le lien entre la survenue de cancers et l'exposition à des traitements du bois à base de pentachlorophénol et tétrachlorophénol. Il n'apparaissait pas d'association claire entre ces expositions et le cancer de la vessie. Par ailleurs, la cohorte rétrospective d'éleveurs de moutons islandais observait une association inverse avec l'exposition au traitement des moutons par le lindane. Cependant ces deux cohortes rétrospectives ne prenaient pas en compte le tabagisme des participants.

Sept des huit études cas-témoins ayant exploré les expositions professionnelles aux pesticides, dont trois en Égypte, deux en Italie, une en Turquie et deux aux États-Unis, ont mis en évidence des élévations de risque de cancer de la vessie. Les contextes professionnels concernés étaient variés (industrie pesticides, élevage, agriculture générale, expositions para-professionnelles de femmes en Égypte). Les niveaux de risque étaient parfois élevés, dépassant 2 dans 5 études (et au-delà de 4 dans 3 études), notamment pour des durées d'exposition dépassant 10 ans.

Par ailleurs, sept études cas-témoins ont porté sur des expositions de la population générale (proximité de zones agricoles aux États-Unis et en Belgique, contamination de l'eau par des dérivés arsenicaux utilisés en agriculture aux États-Unis, teneurs plasmatiques en organochlorés) et n'ont pas mis en évidence d'association significative avec le cancer de la vessie, même si des tendances ont été observées dans trois d'entre elles.

Trois études écologiques ont mis en évidence des élévations modérées du risque de cancer de la vessie en population générale, dont une menée en France et basée sur les surfaces agricoles en viticulture sur la période 1986-1989.

Quelques études se sont intéressées au rôle de polymorphismes génétiques dans l'association entre pesticides et cancer de la vessie. Elles ont en particulier porté sur des gènes codant des enzymes impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques comme les glutathion S-transférases, les N-acétyltransférases ou les cytochromes P450, et suggéré l'existence de certaines susceptibilités individuelles pouvant jouer un rôle dans la survenue de ce cancer en lien avec les expositions aux pesticides.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et les cancers de la vessie

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Professionnels	+
Pesticides au domicile (proximité, usages domestiques)	Population générale	±

+ d'après les résultats de deux cohortes prospectives et de huit études cas-témoins Données nouvelles
± d'après les résultats de sept études cas-témoins et trois études écologiques Données nouvelles

Une méta-analyse parue en 2016 a inclus 11 études (7 analyses de cohortes et 4 études cas-témoins) ayant porté sur le lien entre l'exposition aux pesticides et le cancer du rein. Elle a mis en évidence une élévation du risque de 10 à 30 % statistiquement significative mais avec une hétérogénéité importante entre les études.

En raison du faible nombre de cas incidents, la cohorte américaine n'a pas analysé à ce jour de manière spécifique le cancer du rein en lien avec les 50 molécules intégrées au questionnaire d'inclusion. Elle a cependant produit des données dans plusieurs analyses portant sur des molécules spécifiques (trifluraline, l'imazéthapyr et le diazinon), sans mettre en évidence d'association statistiquement significative. La cohorte française n'a pas à ce jour analysé spécifiquement le cancer du rein. La cohorte rétrospective menée dans des scieries montrait un doublement du risque de cancer du rein chez les ouvriers exposés au pentachlorophénol. Les études toxicologiques ne rapportent pas de risque d'induction de cancer du rein mais ce composé est classé cancérogène certain par le Circ depuis 2016 en raison de liens avec des tumeurs hématopoïétiques. Une relation inverse était observée entre le lindane et le cancer du rein dans la cohorte rétrospective d'éleveurs de moutons islandais.

Quatre études cas-témoins, dont deux qui portaient sur plus de 1 000 cas, ont exploré le lien entre l'exposition professionnelle aux pesticides et le cancer du rein, toutes ont trouvé des élévations de risque, mais non significative pour la plus petite d'entre elles (39 cas). Ainsi un quadruplement de risque a été observé pour des expositions de plus de 20 ans à des herbicides ou des insecticides, un doublement de risque au Canada pour des utilisations de pesticides ou d'herbicides, et risque au-delà de 2 en Europe Centrale et de l'Est pour des expositions aux pesticides de plus de 8 ans. Aucune étude cas-témoins n'a exploré le lien entre les expositions non professionnelles aux pesticides et la survenue de cancer du rein, et une seule étude écologique au Costa-Rica n'a pas trouvé de lien.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et les cancers du rein

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Professionnels	+

+ d'après les résultats de quatre études cas-témoins Données nouvelles

Des données épidémiologiques rapportent une association entre l'exposition à l'arsenic (classé groupe 1 par le Circ), produit lors de la fabrication de pesticides, et le développement des cancers du rein et de la vessie dont le mécanisme repose pour partie sur l'induction d'espèces réactives de l'oxygène qui induisent des cassures simple- et double-brins de l'ADN. Ces dommages sont à l'origine de remaniements chromosomiques impliqués dans le processus de tumorigenèse.

Des associations entre des pesticides ayant une structure proche d'amines aromatiques (imazéthapyr et imazaquine) et le cancer de la vessie ont été observées dans l'AHS, mais des liens ont également été mis en évidence avec d'autres herbicides. Cependant l'exposition de rongeurs à l'imazéthapyr ou l'imazaquine a conclu à une absence d'effet cancérogène, et les résultats sont négatifs pour des effets génotoxiques ou mutagènes sur différents tests *in vitro* ou *in vivo*.

Concernant les organochlorés, une association avec quelques substances actives est rapportée d'après les études épidémiologiques. Le chlorothalonil (fongicide) est classé en groupe 2B par le Circ (cancérogène possible) du fait respectivement d'une perturbation de la respiration mitochondriale et d'un effet perturbateur endocrinien avec une faible activité antagoniste vis-à-vis du récepteur des androgènes. Cette activité cancérogène n'a pas été retrouvée chez l'être humain. Le pentachlorophénol (PCP) est classé en 2019 cancérogène certain par le Circ (groupe 1). Les données de cancérogenèse expérimentale *in vivo* indiquent un effet cancérogène faible mais significatif chez

les rongeurs. Les données issues des tests de mutagenèse et génotoxicité concernant le PCP montrent un effet général positif, et lorsque les tests sont réalisés avec le métabolite majeur tétrachloro-hydroquinone les effets obtenus sont aussi positifs (adduits à l'ADN ou de dommages oxydatifs).

Quelques études épidémiologiques mentionnent une association entre le cancer de la vessie et des dérivés chlorophénoxy : le 2,4-D ou le 2,4,5-T. Ces dérivés sont classés dans le groupe 2B par le Circ, dans le groupe D (*Not Classifiable as to Human Carcinogenicity*) par l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) ou non classés par l'Agence européenne des produits chimiques (Echa). Contaminants dans l'eau de boisson, ils sont pour la plupart des composés hautement toxiques pour l'environnement et pour certains, il est avancé un effet perturbateur endocrinien.

Les expérimentations de cancérogénèse du 2,4-D ou 2,4,5-T chez les rongeurs aboutissent à des résultats ambigus positifs pour certains dérivés mais contestés par les industriels en raison d'une contamination par des impuretés dioxines/furanes classés comme cancérogènes ou d'expérimentations mal conduites. Les résultats des tests *in vitro* de génotoxicité ou mutagenèse conduits sur ces pesticides sont généralement négatifs avec cependant quelques expérimentations qui orientent vers un effet génotoxique en rapport avec l'induction d'un stress oxydant.

Parmi les organophosphorés, seul le malathion a été identifié comme favorisant l'apparition d'anomalies rénales pré-cancéreuses chez le rat, en cas de co-exposition au 17ß-œstradiol mais il n'apparaît pas dans les études épidémiologiques.

Des recherches approfondies sont nécessaires pour mieux définir comment les pesticides contribuent aux altérations moléculaires qui sont à l'origine du développement du cancer de la vessie et du rein. L'analyse de la littérature scientifique la plus récente a fait ressortir plusieurs domaines qui devront faire l'objet des études fondamentales prioritaire en toxicologie : *i*) pour les pesticides proches structurellement d'amines aromatiques, rechercher d'autres mécanismes de cancérogenèse que le seul effet génotoxique ; *ii*) étudier les interactions gènes-environnement (polymorphismes des enzymes du métabolisme ou de la détoxification par des enzymes anti-oxydantes), *iii*) étudier les effets cancérogènes dans des contextes de co-exposition à d'autres agents environnementaux (tabagisme).

Sarcomes des tissus mous et des viscères

Les sarcomes des tissus mous et des viscères sont des tumeurs malignes rares, représentant moins de 1 % de tous les cancers chez les adultes. Ils se développent aux dépens des tissus de soutien de l'organisme ; les tissus adipeux, les tissus fibreux comme les tendons et les ligaments, les muscles striés ou lisses, les vaisseaux sanguins et lymphatiques et le derme. Ils surviennent aussi au niveau de viscères, comme la paroi du système digestif (estomac, intestin et côlon). Le pronostic est déterminé par la présence de métastases qui sont majoritairement pulmonaires et présentes dans environ 10 % des cas, ainsi que par la taille, le grade et le stade de la tumeur, et son emplacement. On recense plus de 50 types histologiques, dont la nature et le classement évoluent avec les progrès de la biologie moléculaire et la découverte de nouvelles entités.

Les dernières estimations réalisées par le réseau FRANCIM portent à 2 658 nouveaux cas annuels le nombre de ces tumeurs chez l'homme et à 2 636 nouveaux cas chez la femme en France, soit des taux d'incidence proches de 5 cas pour 100 000 personnes-années. D'après des registres européens et américains, le taux de survie à 5 ans de ce cancer est, tous types confondus, de l'ordre de 60 à 65 %.

L'étiologie de ces tumeurs est mal connue. La majorité sont des cas sporadiques, mais des associations avec certains syndromes génétiques tels que la maladie de Recklinghausen, le syndrome de Li-Fraumeni, le syndrome de Werner et le rétinoblastome sont aujourd'hui établies. Certains sarcomes apparaissent en lien avec des maladies du système immunitaire (sarcome de Kaposi dans le SIDA). Des facteurs de risque de l'environnement général ou professionnel sont par ailleurs également suspectés, tels que les rayonnements ionisants, les dioxines, le chlorure de vinyle (pour l'angiosarcome hépatique), l'arsenic, ou encore les pesticides.

La question du rôle des pesticides dans la survenue de sarcomes des tissus mous et des viscères a émergé très tôt par rapport au questionnement général sur les effets des pesticides sur la santé, dès la fin des années 1970 à la suite d'observations cliniques en Suède. Le nombre de patients atteints de cette pathologie et ayant manipulé des phénoxyherbicides était apparu anormalement élevé à des oncologues suédois. Des études épidémiologiques sur ces substances ainsi que sur les chlorophénols se sont alors multipliées dans les années 1970 et 1980 afin de clarifier le rôle spécifique de ces herbicides dans la survenue des sarcomes. C'est pourquoi plusieurs articles de synthèse ont été publiés sur le rôle des pesticides dans la survenue des sarcomes des viscères et des tissus mous, mais aucun d'entre eux n'a une

portée générale sur l'utilisation des pesticides en agriculture : ils se sont généralement focalisés sur la question spécifique du potentiel cancérogène des phénoxyherbicides (dont le 2,4-D) ou des chlorophénols. La dernière revue sur le sujet incluait l'ensemble des études publiées jusqu'en 2014 concernant le rôle des phénoxy-herbicides dans la survenue des sarcomes des tissus mous, soit 10 études cas-témoins et 10 études de cohortes. Les auteurs n'ont pas calculé de risque combiné à partir de ces études et, comme les revues précédentes, concluaient qu'il n'était pas possible d'être définitif quant à l'existence d'un risque associé à ces substances, sur la base des données existantes.

En raison de la faible incidence de ces cancers, les cohortes prospectives AHS et AGRICAN n'ont pas à ce jour produit de données sur le risque de sarcome en lien avec des expositions agricoles. Neuf analyses de cohortes rétrospectives, menées dans l'objectif d'explorer l'hypothèse d'un lien avec les chlorophénols ou les phénoxyherbicides, ont été recensées entre 1979 et 1986, aussi bien dans le contexte industriel qu'en agriculture. Certaines de ces cohortes ont ensuite été poursuivies de manière prospective dans les années 1990. Quatre d'entre elles comportaient moins de 500 travailleurs de sites de production et étaient très peu informatives car le nombre de cas restait limité et ne permettait généralement pas de conclure même si des tendances à des excès de sarcomes étaient observées. Un projet du Centre international de recherche sur le cancer a permis de combiner les données de 24 cohortes à l'échelle internationale, réunissant au total 26 615 ouvriers, et concernant des expositions aux phénoxyherbicides et chlorophénols sur la période 1939-1992, en prenant en compte les expositions aux dioxines. À partir de la survenue de 9 cas de sarcomes, l'exposition aux phénoxyherbicides et aux chlorophénols était associée à un doublement de risque de sarcome, à la limite de la significativité statistique (OR = 2,0 ; IC 95 % [0,91-3,79]). Cette analyse a été complétée d'une étude cas-témoins nichée, permettant une estimation approfondie des expositions aux phénoxyherbicides et chlorophénols, en prenant en compte des durées et des scores cumulés d'exposition (sur la base des secteurs, tâches, équipements de protection…). Le risque était multiplié par 10 pour les expositions aux phénoxyherbicides globalement et les risques étaient élevés pour le 2,4-D, le 2,4,5-T et le MCPA, mais les résultats ne sont pas statistiquement significatifs car les effectifs sont faibles. En revanche, il n'était pas mis en évidence d'élévation du risque en lien avec les chlorophénols.

Par ailleurs, trois cohortes rétrospectives ont été menées dans le contexte agricole. La première portait sur le rôle des expositions aux phénoxyherbicides dans la survenue de sarcomes des tissus mous dans une cohorte de

350 000 travailleurs agricoles et forestiers en Suède. Après caractérisation des expositions en sous-catégories à partir de l'intitulé des professions, il n'était pas observé d'élévation du risque de sarcome globalement ni dans chacune des catégories de professions. La seconde, en Finlande, incluait près de 2 000 applicateurs d'herbicides, mais ne décelait pas de cas de sarcomes sur une période de suivi de 18 années. Enfin, une cohorte danoise de plus de 3 000 jardiniers, menée sur la période 1975-2001, montrait une fréquence plus élevée de sarcomes chez les jardiniers nés avant 1915, considérés comme les plus exposés aux pesticides.

Une quinzaine d'études cas-témoins a été menée concernant le rôle des pesticides dans la survenue de sarcomes. La première de ces études, suédoise, à partir de 52 cas et 208 témoins mettait en évidence un risque 5 à 6 fois plus élevé de sarcomes chez les personnes exposées soit aux phénoxyherbicides soit aux chlorophénols. Cette étude s'appuyait sur un registre national de cancers et confirmait les diagnostics par une expertise anatomopathologique des tumeurs, et l'estimation des expositions reposait sur la déclaration des individus. L'hypothèse d'une contamination de ces pesticides par des dioxines (impuretés de fabrication) a été d'emblée évoquée par les auteurs. Une seconde étude a été initiée dans le même pays et selon un protocole identique, mais dans une autre région. Elle a mis en évidence des résultats similaires en incluant 110 cas et 220 témoins, à une période où le 2,4,5-TP, le phénoxyherbicide le plus fréquemment contaminé par des dérivés de dioxine, était interdit. Dans cette deuxième étude, des élévations de risque étaient observées aussi pour des phénoxyherbicides (2,4-D ou MCPA) a priori moins ou pas contaminés par des dioxines.

Dans la suite immédiate de ces deux études suédoises qui montraient des risques élevés, de nombreuses études cas-témoins ont été menées dans divers pays : en Grande-Bretagne, en Nouvelle-Zélande, en Italie ; dans l'État du Kansas, de Washington, et dans d'autres États nord-américains, en Suède, en Australie. Ces études, menées dans les années 1970 à 1990, étaient au total peu concordantes concernant le rôle des phénoxyherbicides et des chlorophénols, certaines montrant des élévations de risque, parfois statistiquement significatives, d'autres non, chez des travailleurs agricoles, des travailleurs du bois ou des jardiniers.

Deux études se sont intéressées à d'autres secteurs professionnels. Aux États-Unis, une étude a montré une élévation du risque chez les éleveurs ayant réalisé des traitements insecticides sur les animaux, plus marquée pour les périodes les plus anciennes, pour les applications par pulvérisation et les poudrages, et chez les personnes qui ne portaient pas d'équipements de protection, plus nette pour les sarcomes fibreux ou myomateux. Une étude canadienne,

qui n'observait pas de lien avec les phénoxyherbicides, mettait en évidence une tendance à l'élévation du risque avec les insecticides et les fongicides ainsi qu'avec le traitement des semences de pommes de terre, et un risque significatif chez les éleveurs de poulets était mis en évidence ainsi qu'une tendance chez les éleveurs de moutons et de petits animaux. Des analyses portant sur des substances actives spécifiques montraient des liens avec l'aldrine et le diazinon, pour cette dernière molécule plus particulièrement pour les sarcomes indifférenciés ainsi que les sarcomes fibromateux et myomateux.

Ainsi, au total, une dizaine d'études de cohorte et une quinzaine d'analyses cas-témoins ont à ce jour exploré le lien entre les pesticides et les sarcomes des tissus mous et des viscères. Une attention particulière a été portée à deux familles de pesticides : les phénoxyherbicides et les chlorophénols, notamment dans les années 1970 et 1980 suite à des études cas-témoins suédoises qui montraient des associations particulièrement fortes avec ces substances. La contamination de ces pesticides par des dioxines lors de certains procédés de fabrication semblait pouvoir en partie expliquer les résultats et la divergence entre les études des différents pays. Mais les divergences pouvaient aussi s'expliquer par des différences méthodologiques, notamment les difficultés de caractérisation des cas (simple repérage sur des codes de la classification internationale des maladies ou caractérisation histopathologique précise, prise en compte de l'ensemble des sarcomes ou de sous-ensembles), ainsi que le choix des groupes (témoins sélectionnés en population générale ou parmi d'autres cas de cancer des registres), ou encore la caractérisation des expositions (simple intitulé d'emploi ou enquête détaillée sur la nature des expositions, leurs durées, leurs intensités). Par ailleurs, la rareté de la maladie s'accompagnait d'estimations instables, basées sur des nombres de cas très limités, en particulier dans les cohortes. Au final, si le rôle de dioxines était plausible dans les études portant sur des populations exposées de manière importante au 2,4,5-T, on ne pouvait exclure formellement le rôle propre des phénoxyherbicides et des chlorophénols, ni même celui d'autres pesticides dans la survenue de ces tumeurs. À partir des années 1990, de nouvelles études ont ainsi suggéré des liens avec des insecticides, notamment dans le traitement des animaux d'élevage, ainsi que des élévations de risque dans d'autres contextes professionnels tels que les métiers du bois.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et les sarcomes des tissus mous et des viscères

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides*	Travailleurs agricoles, travailleurs du bois, jardiniers, éleveurs	+

* principalement des phénoxyherbicides et des chlorophénols
+ d'après les résultats d'une cohorte et de plusieurs études cas-témoins Données nouvelles

Autres évènements de santé

Les problèmes de santé respiratoire, les pathologies de la thyroïde et l'endométriose n'avaient pas été analysés dans l'expertise de 2013 et font l'objet dans cette partie d'une analyse des études épidémiologiques et toxicologiques.

Santé respiratoire

L'asthme et la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) sont des maladies respiratoires chroniques fréquentes dont la prévalence a augmenté au cours des dernières décennies. L'asthme est la maladie chronique la plus fréquente chez les enfants, avec une prévalence en France de 11 % ; la prévalence de la BPCO atteint 5 à 10 % de la population des plus de 45 ans en France. Plus qu'une maladie, l'asthme est un syndrome respiratoire qui apparaît souvent dans l'enfance et se manifeste par des crises de durées et d'intensités variables, pendant lesquelles le patient présente une difficulté à respirer, une respiration sifflante, de la toux, et une sensation d'oppression thoracique. La BPCO, qui se développe en général à partir de 40-50 ans, est définie selon les dernières recommandations internationales par l'existence concomitante de symptômes respiratoires et d'un trouble ventilatoire obstructif fixé. Dans les études épidémiologiques, l'asthme est souvent évalué par questionnaire, le plus souvent sur la base d'une question sur la présence d'un diagnostic d'asthme qui est une définition très spécifique, mais aussi par la présence de symptômes respiratoires évocateurs d'asthme, en particulier les sifflements au cours des 12 derniers mois, qui est une définition globalement plus sensible, mais avec une spécificité moindre (bien qu'elle reste élevée). Le diagnostic de BPCO auto-déclaré est une définition spécifique mais très peu sensible ; cette définition est donc peu appropriée pour définir la prévalence de la maladie, mais reste opérationnelle dans le contexte d'études étiologiques dans lesquelles il est préférable de disposer de définition de la maladie avec une grande spécificité. Bien sûr, quand cela est possible, une définition basée sur les données de spirométrie post-bronchodilatation reste la technique de référence pour évaluer la BPCO en épidémiologie.

L'étiologie de ces maladies respiratoires chroniques reste mal comprise. L'asthme et la BPCO ont une composante génétique mais leur recrudescence rapide dans les pays développés souligne l'impact majeur de l'environnement au sens large. Plusieurs types de facteurs environnementaux, protecteurs (vie à la ferme, contact avec des agents infectieux dans la petite enfance...) ou nocifs (tabac, pollution de l'air, certaines expositions professionnelles...) ont été mis en cause dans le développement de l'asthme. Le tabac est le principal

facteur de risque de la BPCO puisque 80 % des cas sont attribuables au tabagisme actif ou passif. Néanmoins, d'autres facteurs environnementaux ont été identifiés tels que la pollution de l'air, les expositions professionnelles à certaines substances chimiques (poussière de charbon, silice, poussières organiques...) ou sont suspectés, tels que l'exposition aux pesticides.

La littérature sur l'impact des pesticides sur la santé respiratoire est importante avec au total une centaine d'articles dont les deux tiers portent sur les expositions professionnelles : 67 articles sur les expositions professionnelles, dont 28 articles depuis 2014 (date de la dernière revue de la littérature) et 34 articles sur les expositions environnementales, dont 14 depuis 2014. Une revue de la littérature publiée en 2015 portant sur le rôle possible des expositions professionnelles aux pesticides dans l'apparition de symptômes et maladies respiratoires (asthme, BPCO, bronchite chronique) concluait que l'exposition professionnelle aux pesticides présentait un risque pour la santé respiratoire. Elle soulignait cependant la nécessité d'études supplémentaires, notamment des études de cohorte avec une caractérisation approfondie des expositions afin de documenter les relations dose-réponse et les expositions spécifiques aux pesticides et avec des mesures objectives de la santé respiratoire, en particulier des mesures de spirométrie pour évaluer l'obstruction bronchique. En ce qui concerne les expositions environnementales, la revue de la littérature de 2015 concluait à la nécessité d'études supplémentaires pour évaluer le rôle de l'exposition environnementale aux pesticides sur la santé respiratoire des enfants et des adultes. On note une forte variabilité de l'estimation de l'exposition et de la définition de l'évènement de santé ; de ce fait seules deux méta-analyses, l'une ciblant l'exposition professionnelle aux pesticides sur le risque de BPCO/bronchite chronique chez l'adulte et une seconde sur l'association entre l'exposition prénatale au DDE et la santé respiratoire des enfants, ont été publiées.

Au sujet des expositions professionnelles, la méta-analyse récente basée sur 9 cohortes conclut à un risque de BPCO ou bronchite chronique significativement augmenté avec l'exposition aux pesticides (OR = 1,33 ; IC 95 % [1,21-1,47]). Par ailleurs, les résultats des récentes études de cohortes en population générale, dont l'exposition était basée sur la matrice emploi-exposition ALOHA, et des cohortes d'agriculteurs ont permis d'étayer le rôle de l'exposition aux pesticides sur le niveau et le déclin de la fonction ventilatoire et sur l'incidence de la BPCO. Les études exposés-non exposés ou les études transversales conduites dans différentes régions du monde convergent pour indiquer un effet délétère de l'exposition professionnelle aux pesticides sur la santé respiratoire, et plus particulièrement les symptômes respiratoires, l'asthme, la fonction respiratoire, bien que la plupart de ces études

aient été conduites sur des échantillons de petite à moyenne taille (< 300 personnes).

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et des altérations de la santé respiratoire

Exposition/populations	Effets	Présomption d'un lien
Exposition professionnelle aux pesticides (sans distinction)	Fonction respiratoire Asthme, sifflements BPCO, bronchite chronique	+ + ++
Exposition environnementale aux pesticides au domicile (proximité, usages domestiques)	Fonction respiratoire Asthme, sifflements	± +

++ d'après les résultats d'une méta-analyse de très bonne qualité et convergence avec les résultats des études publiées depuis la méta-analyse Données nouvelles
+ d'après les résultats de plusieurs études dont au moins une grande cohorte Données nouvelles
± d'après les résultats de plusieurs études mais pas d'études de cohorte Données nouvelles

En milieu professionnel, une dizaine d'études chez des agriculteurs, avec en premier lieu la cohorte AHS (9 articles) portant sur un large nombre d'agriculteurs (> 20 000), ont évalué l'impact de l'utilisation de pesticides spécifiques sur différents paramètres de la santé respiratoire. Ces études ont permis d'identifier des substances candidates pour la santé respiratoire (tableau ci-dessous).

En ce qui concerne les expositions environnementales, 2 études de cohortes récentes n'ont pas mis en évidence d'association significative entre l'exposition pré- ou post-natale au DDE et la santé respiratoire des enfants d'âge scolaire (sifflements, asthme ou fonction ventilatoire). Cependant, une méta-analyse portant sur 10 études a conclu à un effet – à la limite du seuil de signification statistique – de l'exposition prénatale au DDE sur les symptômes de bronchite et sifflements à 18 mois (OR = 1,03 [1,00-1,07] pour un doublement de la concentration de p,p'-DDE dans le sang du cordon), mais l'étude ne retrouvait pas d'association avec les symptômes à 4 ans. Pour ce qui est des expositions environnementales aux pesticides organophosphorés, certains résultats d'études de cohorte basés sur des biomarqueurs d'exposition suggèrent un impact potentiel de ces pesticides sur la santé respiratoire des enfants, mais d'autres études sont nécessaires pour conclure. Enfin pour la BPCO et la bronchite chronique, il n'y a pas d'études rigoureuses permettant d'établir un lien de présomption.

Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque d'altération de la santé respiratoire

Famille Substances actives	Populations	Présomption d'un lien		
		Fonction respiratoire	Asthme, sifflements	Bronchite chronique, BPCO
Organochlorés				
Organochlorés	Population générale	±		
DDT	Agriculteurs		±	±
	Population générale	+	+	
Heptachlore	Agriculteurs		±	±
Hexachlorocyclohexane (HCH)	Agriculteurs		±	±
Organophosphorés				
Organophosphorés	Population générale		±	
Chlorpyrifos	Agriculteurs	±	±	
Coumaphos	Agriculteurs		±	±
Diazinon	Agriculteurs		±	±
Dichlorvos	Agriculteurs		±	±
Malathion	Agriculteurs		±	±
Parathion	Agriculteurs		±	±
Carbamates/Dithiocarbamates				
Carbamates/Dithiocarbamates	Milieu agricole		±	
Carbaryl	Agriculteurs		±	±
Pyréthrinoïdes				
Pyréthrinoïdes	Population générale	±		
Perméthrine	Agriculteurs		±	±
Triazines				
Atrazine	Agriculteurs		±	
Phénoxyherbicides				
Phénoxyherbicides	Vétérans/Agriculteurs		±	±
2,4-D	Agriculteurs		±	
2,4,5-T	Agriculteurs		±	±
Aminophosphonate glycine				
Glyphosate	Agriculteurs		±	
Autres				
Chlorimuron-éthyle	Agriculteurs		±	±
Paraquat	Agriculteurs	±	+	±

+ d'après les résultats qui ont été rapportés dans au moins deux études indépendantes de bonne qualité (deux études conduites sur la même cohorte, comme l'AHS, ne sont pas considérées comme indépendantes) Données nouvelles
± d'après les résultats rapportés dans une seule étude (ou plusieurs études conduites sur une même cohorte) Données nouvelles

Les liens entre exposition à un certain nombre de pesticides et santé respiratoire ont été évalués sur la base de mécanismes physiopathologiques analysés sur des modèles animaux ou des lignées cellulaires *in vitro*. Il ressort de la littérature une constante production de stress oxydant suite à l'exposition aux 17 pesticides retenus à partir des données épidémiologiques (tableau ci-dessus). Les trois effets recherchés, stress oxydant, mitotoxicité et immunomodulation de la réponse inflammatoire sont retrouvés pour le chlorpyrifos et la perméthrine. La participation de deux facteurs (stress oxydant et mitotoxicité) est retrouvée pour le malathion, l'HCH, le DDT, l'atrazine, le glyphosate et le paraquat ; pour la participation du stress oxydant et de l'immunomodulation ces deux effets sont retrouvés pour le diazinon, le parathion, et le 2,4-D. Ainsi, le lien entre une exposition aux 17 pesticides et santé respiratoire est conforté par des données mécanistiques, en particulier pour 11 d'entre eux, y compris le chlorpyrifos et la perméthrine qui sont associés aux 3 effets. Parmi les 7 pesticides issus d'un classement moins restrictif, 6 sont associés à l'induction d'un stress oxydatif. Outre l'effet stress oxydatif, le carbofuran présente une activité mitotoxique, et la cyfluthrine et le chlorothalonil un effet immunomodulateur. Ces données mécanistiques, en particulier lorsqu'elles sont associées à un effet irritant (H317, H335) pour le chlorothalonil, devront être validées par des résultats d'enquêtes épidémiologiques, mais elles illustrent l'intérêt d'une réflexion partagée entre épidémiologie et toxicologie moléculaire. Par ailleurs, sur la base d'un effet immunomodulateur au niveau pulmonaire, 6 pesticides non retrouvés dans les données épidémiologiques ont été considérés : mancozèbe, méthoxychlore, deltaméthrine, indoxacarbe, imidaclopride et fipronil ainsi qu'un agent synergisant, fréquemment associé aux pyréthrinoïdes, le PBO.

Pour ce qui concerne les organophosphorés et les insecticides carbamates, l'effet toxique pulmonaire repose sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme de dégradation de l'acétylcholine et cible de ces agents. Cependant, l'effet bronchoconstricteur par activation des récepteurs muscariniques M3 des muscles lisses des voies respiratoires a été observé à des concentrations de pesticides qui n'inhibent pas l'AChE. L'impact des pesticides sur la santé respiratoire a longtemps été peu exploré en toxicologie, l'un des facteurs majeurs étant l'absence de recherche d'un tel effet sur le modèle expérimental rongeur. La pertinence d'une démarche allant d'un impact sur une cible vers la recherche d'un lien potentiel en pathologie chez l'être humain est à tester, par exemple sur ces composés.

Pathologies thyroïdiennes

La thyroïde est une glande endocrine qui synthétise des hormones intervenant dans de nombreux processus physiologiques tels que le métabolisme cellulaire, l'énergie musculaire, la température corporelle... Son fonctionnement est sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien, une voie impliquant l'hormone thyréotrope (*Thyrotropin-Releasing Hormone*), produite par l'hypothalamus, qui stimule la synthèse de la thyréostimuline (*Thyroid-Stimulating Hormone* ; TSH) par l'antéhypophyse. La TSH agit sur les cellules folliculaires de la thyroïde pour stimuler la synthèse et la sécrétion des hormones thyroïdiennes tri-iodothyronine (T3) et thyroxine (T4). L'hypothyroïdie est caractérisée par une insuffisance de sécrétion d'hormones thyroïdiennes alors que c'est l'inverse en cas d'hyperthyroïdie. On distingue des formes franches avec une modification de la TSH, T4 et T3 en dehors des valeurs normales, et des formes infracliniques où seule la TSH est modifiée. Dans certains cas, l'origine est un déficit de stimulation hypophysaire, c'est-à-dire de TSH.

L'iode est indispensable à la production des hormones thyroïdiennes et doit être fourni par l'alimentation quotidienne. Dans les pays avec un apport suffisant en iode, la prévalence de l'hyperthyroïdie franche se situe entre 0,2 % et 1,3 %, alors que celle de l'hyperthyroïdie infraclinique est entre 1 % et 5 %. Concernant les hypothyroïdies franches, la prévalence dans la population générale est estimée entre 0,2 % et 5,3 % en Europe.

Parmi les facteurs de risque on retrouve le genre, l'auto-immunité, des antécédents familiaux de dysthyroïdie, certains traitements médicamenteux, l'âge, ou le déficit en iode. Les pesticides font partie des facteurs de risque suspectés et les quelques données épidémiologiques disponibles avaient été examinées lors de l'expertise de 2013, sans pouvoir se prononcer sur l'existence d'un lien entre l'exposition aux pesticides et la survenue de pathologies thyroïdiennes[10]. La littérature s'est enrichie ces dernières années et sur plus de 70 études épidémiologiques identifiées, une soixantaine d'études portaient sur des populations en milieu professionnel ou en population générale, en proportion équivalente, et une dizaine sur des riverains de zones agricoles ou industrielles. La majorité des études est de type transversal, avec 15 études de cohorte et 3 études cas-témoins dont une nichée dans une cohorte.

Concernant le risque en milieu professionnel, une association entre l'exposition aux pesticides organochlorés et un risque accru d'hypothyroïdie a été retrouvée dans trois études de la cohorte américaine d'applicateurs de

10. Chapitre intitulé « Pesticides et pathologies métaboliques : données épidémiologiques » de l'expertise collective de l'Inserm « Pesticides : Effets sur la santé », publiée en 2013.

pesticides *Agricultural Health Study* (AHS), alors que les résultats sont moins concordants pour les autres familles de pesticides. Concernant les analyses par substances actives, le risque d'hypothyroïdie était augmenté chez les participants ayant utilisé certains insecticides organochlorés (chlordane, aldrine, heptachlore et lindane), des organophosphorés (diazinon, dichlorvos, malathion, et coumaphos), ainsi que des herbicides (dicamba, glyphosate et 2,4-D). En ajustant sur des pesticides corrélés, les associations sont restées significatives pour le chlordane, l'heptachlore, le diazinon et le dicamba. Les insecticides carbamates ou pyréthrinoïdes, ainsi que les fongicides et les fumigants étudiés n'étaient, eux, pas associés au risque d'hypothyroïdie. Ces résultats étaient généralement cohérents avec les précédentes analyses dans cette même cohorte sur les cas prévalents ou sur les cas incidents avec un moindre suivi. Une analyse plus fine des données issues de l'AHS a été menée pour explorer le risque d'hypothyroïdie infraclinique (définie par les auteurs comme une TSH > 4,5 mIU/l). Pour les catégories d'exposition les plus élevées, un risque multiplié par environ 4,7 a été retrouvé en lien avec l'exposition cumulée au cours de la vie à l'aldrine (avec une relation exposition-effet), ainsi qu'un risque multiplié par environ 2,8 pour l'herbicide pendiméthaline.

Toujours à partir de l'AHS, une étude transversale sur les conjointes des applicateurs de pesticides a montré une augmentation du risque d'hypothyroïdie avec l'exposition au chlordane, les fongicides bénomyl, manèbe/mancozèbe, et l'herbicide paraquat. Une étude longitudinale sur cette population a confirmé l'augmentation du risque d'hypothyroïdie en lien avec bénomyl et manèbe/mancozèbe, et a montré un lien avec le métalaxyl. Un risque accru d'hypothyroïdie était également retrouvé pour la pendiméthaline, le parathion et la perméthrine après ajustement sur d'autres pesticides corrélés. Il est à noter qu'une diminution du risque est observée pour certaines substances actives (l'insecticide phorate et les herbicides imazéthapyr et métolachlore).

Concernant le risque d'hyperthyroïdie, des analyses transversales et longitudinales ont mis en évidence une association pour le manèbe/mancozèbe chez les conjoints des applicateurs de pesticides dans la cohorte AHS. Dans l'analyse longitudinale, une association a été également retrouvée pour le diazinon et le métolachlore, tandis qu'une diminution du risque a été retrouvée pour l'herbicide trifluraline. En revanche, chez les sujets de la cohorte AHS (essentiellement des hommes), plusieurs pesticides étaient associés à une diminution de risque d'hyperthyroïdie (malathion, manèbe/mancozèbe, dicamba, métolachlore, atrazine et chlorimuron-éthyle).

De nombreuses autres études en milieu professionnel, pour la plupart de nature transversale, se sont intéressées aux liens entre l'exposition aux pesticides et les concentrations sériques d'hormones thyroïdiennes et de TSH en absence de diagnostic clinique de pathologie thyroïdienne. Les résultats de ces études sont hétérogènes et ne permettent pas de conclure à une dysthyroïdie.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et pathologies thyroïdiennes

Exposition/populations	Effets	Présomption d'un lien
Exposition professionnelle aux pesticides (sans distinction)	Hypothyroïdie franche ou infraclinique	+
Exposition professionnelle aux fongicides (sans distinction)	Hypothyroïdie	±

+ d'après les résultats de la cohorte AHS et études transversales Données nouvelles
± d'après les résultats de la cohorte AHS Données nouvelles

Une trentaine d'études en population générale ont été identifiées, dont trois avec des effectifs importants : l'étude américaine NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*), une étude coréenne et une étude thaïlandaise. Les résultats ne concernent pas les mêmes substances actives et sont, en général, discordants selon le genre et l'âge. Il est cependant possible de retenir de l'étude coréenne, que les concentrations urinaires d'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), métabolite commun à plusieurs pyréthrinoïdes (cyperméthrine, deltaméthrine, mais pas à la cyfluthrine) étaient associées négativement aux T4 et T3 totaux, surtout chez les hommes. De l'étude NHANES, on retient une association entre le 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPy ; métabolite urinaire du chlorpyrifos et du chlorpyrifos-méthyl), le p,p'-DDE sérique (métabolite du pesticide organochloré DDT) et les hormones thyroïdiennes, même si les résultats divergent entre les hommes et les femmes et selon l'âge. Les résultats d'autres études en population générale portant sur des effectifs réduits renforcent les associations ci-dessus, notamment pour TCPy, dieldrine, hexachlorobenzène et DDT. Néanmoins, les résultats des études en population générale, pris dans leur ensemble, ne permettent pas de conclure de manière certaine à une association entre l'exposition à des pesticides et des variations cohérentes des concentrations circulantes en hormones thyroïdiennes.

De nombreuses études ont exploré plus particulièrement le lien entre pesticides et le risque de dysthyroïdies dans certaines populations sensibles (femmes enceintes et nouveau-nés) ou des populations particulièrement exposées (riveraines de zones agricoles ou industrielles).

Les dysthyroïdies pendant la grossesse peuvent avoir des effets néfastes sur la santé de la femme enceinte, mais aussi sur le développement et la croissance du fœtus, et l'impact des pesticides sur la fonction thyroïdienne pendant cette période sensible a fait l'objet de plusieurs travaux. Dans l'étude de cohorte californienne CHAMACOS, l'exposition à l'hexachlorobenzène est associée à une baisse de T4 libre et totale, et dans une étude transversale ce pesticide est associé à une baisse de T3 totale. Dans deux études transversales sur des femmes enceintes chinoises, les taux urinaires des métabolites de pesticides organophosphorés étaient associés à une diminution de la TSH et une augmentation de T4 libre, alors que les pyréthrinoïdes étaient associés à une diminution de T3 libre.

Plusieurs études sur des couples mères-enfants ont exploré l'effet de l'exposition prénatale aux pesticides sur la fonction thyroïdienne chez les nouveau-nés. La plus récente, menée sur une cohorte prospective aux Pays-Bas, n'a trouvé aucune relation entre l'exposition aux pesticides organophosphorés et les taux d'hormones thyroïdiennes chez la mère ou dans le sang de cordon, malgré un niveau d'imprégnation important. L'exposition aux pyréthrinoïdes (mesurée par le métabolite 3-PBA dans les urines) a été analysée au 1er trimestre de grossesse chez des femmes enceintes japonaises et aucune association n'était retrouvée avec les concentrations de TSH et T4 chez les femmes comme chez les nouveau-nés, tandis que dans une autre étude de cohorte en Afrique du Sud, les pyréthrinoïdes étaient positivement associés à la TSH chez les nouveau-nés. Quelques études transversales de petite taille sur des couples mères-enfants ont montré que les taux de certains pesticides organochlorés chez les mères étaient généralement associés à une baisse d'hormones thyroïdiennes et/ou une augmentation de la TSH chez les nouveau-nés.

Quelques études portant sur des populations riveraines ont été identifiées. Dans une étude espagnole, les personnes résidant dans une zone d'agriculture intensive où les pesticides étaient davantage utilisés présentaient une augmentation de risque de 49 % d'hypothyroïdie et, dans une moindre mesure, d'autres pathologies thyroïdiennes (goître, thyroïdite et thyrotoxicose). Une étude brésilienne portant sur une population habitant une zone industrielle contaminée par les pesticides organochlorés a retrouvé une association négative entre l'endosulfan II et la T3 totale, et aussi entre le DDT et la T4 libre chez les hommes, alors que ces associations étaient positives chez les femmes. Cette étude a montré également une augmentation d'hormones thyroïdiennes en lien avec α-chlordane, HCB, heptachlore et méthoxychlore chez les femmes, et une diminution de T4 libre et une augmentation de TSH en lien avec le β-HCH chez les hommes. Enfin, dans deux études portant sur

des populations habitant à proximité de zones industrielles, une augmentation des taux d'HCB était associée à une baisse de T4 totales.

Concernant le cancer de la thyroïde, une seule étude a mis en évidence une augmentation de risque en lien avec l'exposition au malathion chez les conjointes des applicateurs de pesticides de l'AHS. En revanche, aucune augmentation de risque n'a été observée dans d'autres populations avec des effectifs importants (familles d'agriculteurs, résidentes de fermes, travailleurs dans une usine de production de pesticides). Pris dans leur ensemble, les résultats de ces études ne montrent pas de lien robuste entre l'exposition aux pesticides et la survenue d'un cancer de la thyroïde.

Les résultats d'études toxicologiques expérimentales apportent des éléments de plausibilité biologique à certaines associations décrites ci-dessus. Les pesticides pourraient être à l'origine de ces effets par des mécanismes capables de perturber la fonction thyroïdienne en agissant sur de nombreux processus biologiques au niveau de la glande ou dans les tissus périphériques parmi lesquels une modification de la production des hormones thyroïdiennes (l'inhibition de la thyroperoxydase, des désiodases, du transport de l'iode), de leur biodisponibilité (altération de la fixation aux protéines de transport), de leur métabolisation (stimulation ou inhibition du métabolisme des enzymes hépatiques de phase II), de la production/inhibition de T3 par modification de l'activité de désiodases ou interaction avec les récepteurs génomiques ou non génomiques.

Parmi les familles de pesticides qui sont ressorties des études décrites ci-dessus, les organochlorés, dans leur ensemble, semblent être associés à une diminution de la T4 (les résultats obtenus sur la T3 libre sont contradictoires). Une augmentation de l'activité uridine diphosphate glucuronyltransférase (UGT) hépatique, qui est observée avec le DDT et le HCB, pourrait être responsable de cet effet. Toutefois, des études *in vitro* montrent que des mécanismes impliquant d'autres acteurs de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien, comme le fonctionnement du récepteur à la TSH, sont possibles. D'autres études confirment dans des modèles expérimentaux que certains fongicides carbamates (mancozèbe et thirame) diminuent la production des hormones thyroïdiennes, un effet qui pourrait être lié à une dérégulation de l'activité de la thyroperoxydase. Les résultats des travaux *in vitro* et *in vivo* vont également dans le sens d'une diminution des hormones thyroïdiennes liée à une exposition aux organophosphorés (à des doses environnementales dans certains cas). Sur le plan mécanistique, cet effet peut être attribué à une diminution de leur synthèse. Les résultats expérimentaux sur les pyréthrinoïdes suggèrent fortement un effet sur l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien. Des études *in vitro* suggèrent un mécanisme d'action impliquant

le récepteur des hormones thyroïdiennes pour la perméthrine, la tétraméthrine et la deltaméthrine, notamment à des doses faibles (de l'ordre de 10^{-8} M) toutefois insuffisamment étudiées *in vivo* (à l'exception de la perméthrine, pour laquelle les résultats *in vitro* et *in vivo* sont concordants).

Le glyphosate, le fipronil et l'imidaclopride (appartenant à la famille des néonicotinoïdes), pour lesquels les données épidémiologiques étaient faibles (ou manquantes), ont été également analysés et ont montré qu'ils pouvaient avoir un effet potentiel de perturbation thyroïdienne.

Les rongeurs représentent le modèle classiquement utilisé en toxicologie réglementaire pour évaluer les potentiels effets sur la fonction thyroïdienne, malgré ses limites telle que l'absence d'expression de la protéine sérique de liaison des hormones thyroïdiennes (*thyroxine binding globulin* ; TBG) et l'importance de la régulation de la conjugaison hépatique des hormones thyroïdiennes. Des modèles reposant sur la métamorphose des poissons ou batraciens pourraient remplacer celui des rongeurs après une étape de criblage *in vitro*. Ces modèles rongeurs et batraciens révèlent assez souvent un dimorphisme sexuel quant à l'expression de gènes dans différents tissus, dont certains peuvent être co-régulés par l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique avec des conséquences phénotypiques ou physiopathologiques.

Par ailleurs, parmi les pistes à explorer trois d'entre elles méritent un intérêt particulier : *i*) peu d'expérimentations concernent l'évaluation de pesticides comme potentiels perturbateurs du système immunitaire (par exemple dans la maladie de Basedow) lequel peut représenter un évènement initial amplifié par les interférences sur les cibles de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien ; *ii*) peu d'expérimentations se sont intéressées à la régulation non génomique (par exemple par liaison à l'intégrine $\alpha_v\beta_3$) de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien suite à une exposition aux pesticides ; *iii*) peu d'expérimentations sont orientées vers les mélanges qui évaluent les effets spécifiques de différents principes actifs en comparaison de combinaisons classiquement retrouvées en agriculture et élevage.

Enfin, des pesticides présentant un effet perturbateur thyroïdien devraient être suivis par les enquêtes épidémiologiques et réciproquement les associations trouvées sur des populations exposées devraient provoquer des recherches sur les mécanismes d'action. Ce domaine toxicologique manquait jusqu'à très récemment d'une approche AOP[11] qui lèvera les ambiguïtés et controverses générées par des tests *in vivo* avec leurs limites.

11. « *Adverse Outcome Pathway* » : une construction conceptuelle assemblant les connaissances sur le lien entre un évènement moléculaire et un effet néfaste à un niveau pertinent pour une évaluation de risque.

Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque d'hypothyroïdies franches ou infracliniques ou une augmentation des niveaux de thyréostimuline

Famille Substances actives	Populations	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Organochlorés (sans distinction)	Applicateurs, agriculteurs	+
DDT/DDE	Applicateurs, agriculteurs, autres professionnels	±
	Population générale (femmes enceintes, enfants et nouveau-nés)	+
Aldrine	Applicateurs	±
Heptachlore	Applicateurs/agriculteurs	+
Lindane	Applicateurs	±
Chlordane	Applicateurs/agriculteurs	+
Hexachlorobenzène (HCB)	Population générale (femmes enceintes et nouveau-nés)	+
	Populations riveraines des zones agricoles ou industrielles	±
Carbamates/Dithiocarbamates		
Bénomyl	Applicateurs	±
Manèbe/mancozèbe*	Applicateurs, travailleurs agricoles, ouvriers en industrie de production	+
Organophosphorés		
Chlorpyrifos	Population générale	±
Diazinon*	Applicateurs	+
Malathion*	Applicateurs	+
Parathion	Applicateurs	±
Pyréthrinoïdes		
Pyréthrinoïdes	Population générale (adultes et nouveau-nés)	±
Phénoxyherbicides		
2,4-D	Agriculteurs	±
Autres		
Paraquat	Applicateurs, agriculteurs	±
Glyphosate	Applicateurs, agriculteurs	±
Dicamba	Applicateurs	±
Pendiméthaline	Applicateurs	±

+ d'après les résultats qui ont été rapportés dans au moins deux études indépendantes de bonne qualité (deux études conduites sur la même cohorte, comme l'AHS, ne sont pas considérées comme indépendantes) Données nouvelles
± d'après les résultats rapportés dans une seule étude (ou plusieurs études conduites sur une même cohorte) Données nouvelles
* excès de risque d'hyperthyroïdie avec une présomption faible d'un lien (±)

Endométriose

L'endomètre est une muqueuse qui recouvre la paroi interne de l'utérus et dont les propriétés évoluent au cours du cycle menstruel : épaississement et vascularisation dans la première phase, accueil éventuel de l'embryon au cours de la deuxième phase, ou en l'absence de fécondation, desquamation produisant les règles ou menstruations. L'inflammation chronique de ce tissu (endométriose) est une maladie qui se caractérise par la présence anormale (ectopique) de cellules endométriales en dehors de la cavité utérine et qui pourrait, selon certaines données, toucher 5 à 10 % des femmes en âge de procréer. On distingue (principalement) des localisations ovariennes (endométriome ovarien), péritonéales superficielles et sous-péritonéales, ces dernières pouvant être rétro-péritonéales ou profondes en infiltrant les viscères abdominaux ou pelviens.

L'étiologie de la maladie reste largement méconnue. Diverses études suggèrent des facteurs génétiques, nutritionnels ou hormonaux non exclusifs. Parmi les facteurs les plus souvent associés au risque d'endométriose, on trouve un âge précoce aux premières règles, un cycle menstruel plus court, un faible poids de naissance, un indice de masse corporelle (IMC) plus faible au cours de la vie ou le fait d'avoir moins d'enfants. Un rôle de certains perturbateurs endocriniens qui contribueraient à son développement et à sa sévérité est évoqué.

Les études épidémiologiques publiées à ce jour sur le lien entre les pesticides et le risque d'endométriose, sont peu nombreuses et portent uniquement sur l'exposition non professionnelle. La plupart des études identifiées dans cette expertise collective ont examiné les pesticides organochlorés, alors qu'une seule étude a concerné des pesticides peu persistants.

Deux revues systématiques avec méta-analyse, publiées en 2019, ont examiné le rôle de l'exposition aux polluants organiques persistants (POP), incluant des pesticides organochlorés, dans la survenue de la maladie. L'exposition aux pesticides organochlorés était associée avec une augmentation statistiquement significative du risque d'endométriose sur la base des résultats d'une étude de cohorte (mesurant l'exposition et posant le diagnostic d'endométriose simultanément) et quatre études cas-témoins. Selon les auteurs, ce résultat est à considérer avec précaution étant donnée l'hétérogénéité de ces études. La seconde méta-analyse concluait également à une augmentation statistiquement significative du risque sur la base de 8 études dont deux cohortes sur la même population et 6 études cas-témoins.

Les premières études cas-témoins hospitalières portant sur le sujet, réalisées au Canada et au Japon et publiées en 1998 et 2005, n'ont pas mis en évidence une association entre le risque d'endométriose et l'exposition à une douzaine de pesticides organochlorés. Cependant, l'interprétation des résultats de ces études est difficile à cause des données non chiffrées et d'incertitudes liées à la méthodologie. Deux autres études, réalisées aux États-Unis et en Italie, se sont intéressées aux POP et ont aussi examiné l'hexachlorobenzène (HCB) et/ou le dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE), mais aucune élévation de risque statistiquement significative n'a été mise en évidence.

Deux publications dans lesquelles deux sous-cohortes américaines ont été explorées, avec mesure de l'exposition et diagnostic de la pathologie simultanés, ont été identifiées. Dans la première sous-cohorte de 600 femmes, les taux sériques de deux isomères d'un même pesticide (hexachlorocyclohexane, HCH), étaient retrouvés associés à un risque accru de la maladie. Le γ-HCH était le seul parmi une cinquantaine de POP (dont onze pesticides organochlorés) associé à une élévation de risque dans une sous-cohorte ayant subi une laparoscopie ou laparotomie pour d'autres indications, tandis que le β-HCH était le seul associé dans une deuxième sous-cohorte de femmes recrutées dans la population générale et diagnostiquées par IRM. Une étude dans ces mêmes sous-cohortes, publiée en 2020, a mesuré les taux urinaires d'une douzaine de substances actives (ou de leurs métabolites) appartenant aux familles des pesticides organophosphorés, insecticides pyréthrinoïdes, et phénoxyherbicides. Aucune différence significative dans la somme des concentrations des pesticides entre les femmes atteintes ou non d'endométriose n'a été retrouvée, toutefois les auteurs ont conclu que des expositions élevées au diazinon, chlorpyrifos ou chlorpyrifos-méthyl (des pesticides organophosphorés) pourraient être associées à un risque d'endométriose en raison de l'observation de tendances.

L'existence d'un lien potentiel entre l'exposition au HCH et au HCB et la maladie a été suggérée par trois études cas-témoins. Dans une étude américaine, les concentrations sériques de pesticides organochlorés ont été mesurées chez 248 cas et 538 témoins de la population. Deux composés, β-HCH et mirex, étaient positivement associés à l'endométriose (pour les 3^{e} et 4^{e} quartiles d'exposition). L'association avec β-HCH était plus forte lorsque l'analyse était restreinte aux cas d'endométriose ovarienne.

Dans une autre étude américaine portant sur des très faibles effectifs (84 femmes dont 32 diagnostiquées avec endométriose), les taux sériques de six pesticides organochlorés ont été mesurés. Le HCB était associé à une augmentation statistiquement significative du risque pour le tercile d'exposition le plus élevé (multiplié par 5), alors que des tendances étaient

observées pour l'aldrine, le β-HCH et le mirex, mais l'interprétation de ces résultats est limitée par le faible nombre de sujets avec des dosages au-dessus de la limite de détection. Une étude cas-témoins hospitalière en France a évalué l'association entre l'exposition aux POP, dont plusieurs pesticides organochlorés, et l'endométriose profonde avec ou sans endométriose ovarienne chez 55 cas et 44 témoins. Des associations positives ont été montrées pour *trans*-nonachlore, dieldrine, β-HCH et HCB et *cis*-heptachlore époxyde (risque multiplié par 5).

Sur le plan mécanistique, l'immunomodulation de l'activité cytotoxique des cellules NK ou de la fonction macrophagique (associée à une inflammation) est retrouvée à de multiples niveaux (association clinique et/ou études expérimentales) avec différentes classes de pesticides dont les organochlorés et les organophosphorés examinés dans les études épidémiologiques ci-dessus. Ces dérégulations peuvent expliquer à la fois la migration favorisée des cellules endométriales et l'absence d'élimination de celles-ci au niveau des lésions. L'influence des œstrogènes semble essentielle, mais avec une complexité qui nécessite de prendre en compte la temporalité d'action de pesticides pro- ou anti-œstrogéniques (notamment pour les formes profondes). Le rôle de l'épigénétique en tant que processus conduisant à des variations d'expression d'acteurs clés de l'endométriose (aromatase, récepteurs aux œstrogènes...), demeure insuffisamment exploré et pourrait permettre de définir des profils de sensibilité au développement de cette pathologie.

L'endométriose est une maladie complexe impliquant probablement plusieurs mécanismes physiopathologiques pour expliquer les multiples formes cliniques. Plusieurs hormones, notamment les œstrogènes, sont suspectées d'intervenir dans ces mécanismes et il est donc logique de poser l'hypothèse d'un rôle des perturbateurs endocriniens environnementaux, et notamment certains pesticides, comme agents étiologiques.

Les résultats d'une dizaine d'études épidémiologiques sur le sujet, pris dans leur ensemble, conduisent à la présomption faible d'un lien entre l'exposition aux pesticides organochlorés et le risque d'endométriose. Deux substances actives appartenant à cette famille, β-HCH et HCB, semblent être impliquées mais avec une force de preuve faible. Une étude récente a suggéré un lien avec certains pesticides organophosphorés, mais cette observation doit être confirmée. Des difficultés à évaluer précisément le degré et la temporalité d'exposition en raison d'un manque de marqueurs adaptés et une variabilité des taux de détection sont des sources importantes d'incertitude. Des études observationnelles de haute qualité méthodologique semblent donc nécessaires pour confirmer ces liens et approfondir les recherches sur d'autres agents perturbateurs endocriniens.

Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et l'endométriose

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides organochlorés	Population générale	±

± d'après les résultats de deux méta-analyses publiées à la même période (basées sur cinq études et huit études qui se recoupent partiellement) Données nouvelles

Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque de l'endométriose

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Organochlorés		
β-hexachlorohexane (β-HCH)	Population générale	± [a]
Hexachlorobenzène (HCB)	Population générale	± [b]

± [a] d'après les résultats d'une étude de cohorte et deux études cas-témoins Données nouvelles
± [b] d'après les résultats d'une étude de cohorte et une étude cas-témoins Données nouvelles

Focus sur des substances actives

Alors que la logique qui avait été utilisée dans l'expertise depuis 2013 était une entrée par pathologie, trois substances ont fait l'objet d'un focus, le chlordécone et le glyphosate à la demande des commanditaires de l'expertise, auxquels se sont ajoutés les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase ou SDHi. L'exposition au chlordécone, n'abordant que l'association avec le cancer de la prostate, est analysée dans la section correspondante « Cancer de la prostate, focus sur le chlordécone ». Ces trois substances ont été examinées parce qu'elles font l'objet de débats scientifique et sociétaux et qu'elles sont parfaitement représentatives de la complexité du domaine de la santé environnementale. En effet, le chlordécone est une substance active qui a été utilisée dans une région restreinte, les Antilles françaises, essentiellement sur une culture, la banane, et pour laquelle il existe des données toxicologiques, mais seulement deux études épidémiologiques. À l'inverse, le glyphosate est l'herbicide le plus utilisé dans le monde et de nombreuses études épidémiologiques et toxicologiques sont disponibles. Mais, ces études sont parfois contradictoires et difficiles à interpréter et l'analyse du potentiel cancérogène du glyphosate a généré en 2015 une différence d'interprétation entre le Circ et l'Efsa. Enfin, pour les SDHi, très peu d'études sont disponibles et l'appréciation du risque repose à l'heure actuelle essentiellement sur le mécanisme d'action de ces pesticides.

Glyphosate et formulations à base de glyphosate

Les propriétés herbicides du glyphosate ont été découvertes par la société Monsanto en 1970 et la première formulation commerciale contenant du glyphosate a été mise sur le marché en 1974 sous l'appellation Roundup. Le glyphosate est l'herbicide le plus utilisé dans le monde, sa consommation est passée de 56 000 tonnes en 1994 à plus de 820 000 tonnes en 2014 avec un usage principalement agricole. C'est également l'herbicide le plus utilisé en France, avec des quantités annuelles vendues de 6 421 tonnes (en 2009) et 10 070 tonnes (en 2014). Une partie de ces quantités est vendue sous forme de produits commerciaux autorisés pour le grand public (les non professionnels) : entre 13,9 % (2017) et 23,7 % (2013).

Du fait de ses modalités et circonstances d'application, l'absorption cutanée est considérée comme la principale voie d'exposition chez les utilisateurs professionnels ou non. Cependant, la contamination des denrées alimentaires peut également entraîner une exposition des consommateurs par voie orale. Une fois absorbé dans l'organisme, le glyphosate est très peu métabolisé (moins de 1 %) et est éliminé dans les urines sous forme inchangée. Sans potentiel d'accumulation notoire, sa demi-vie chez l'être humain est estimée entre 5 et 10 h. Par conséquent, la quantification du glyphosate dans les urines représente la méthode la plus appropriée pour estimer et suivre au cours du temps l'exposition des populations. Néanmoins, cela exige des méthodes analytiques rigoureuses combinant des techniques d'extraction, de séparation et de détection.

Les concentrations urinaires fréquemment retrouvées dans les populations exposées professionnellement ou en population générale sont de l'ordre du µg/l. Ces valeurs sont inférieures d'un facteur 100 à 1 000 à celles attendues pour une exposition chronique correspondant à la dose journalière admissible (DJA) actuellement déterminée par l'Efsa, soit 0,5 mg/kg/j. Pour autant, cette valeur de référence, basée sur des données expérimentales chez l'animal de laboratoire, ne permet pas d'exclure tout risque chez l'être humain, en particulier lors d'expositions répétées et sur le long terme. C'est ainsi que de nombreuses études épidémiologiques se sont intéressées à la survenue de pathologies tumorales et non tumorales lors d'expositions professionnelles (et dans une moindre mesure dans des circonstances d'exposition résidentielle) à des préparations à base de glyphosate.

En 2013, l'expertise collective Inserm avait conclu que l'exposition au glyphosate était associée à un excès de risque de lymphomes non hodgkiniens (LNH) avec une présomption faible d'un lien s'agissant des agriculteurs et une présomption moyenne d'un lien s'agissant des populations exposées

professionnellement sans distinction de leur catégorie d'emploi. De nouvelles données ont été acquises depuis 2013. Le suivi de la cohorte AHS aux États-Unis n'a pas montré d'associations entre le fait d'appliquer du glyphosate dans un cadre professionnel et le risque de survenue de LNH ou de ses principaux sous-types. Néanmoins, une méta-analyse publiée par le consortium Agricoh, combinant la cohorte AHS ainsi que deux autres cohortes de travailleurs agricoles (AGRICAN en France et CNAP en Norvège) et totalisant plus de 300 000 sujets dont 2 430 cas de LNH, a montré une association statistiquement significative entre le risque de survenue d'un lymphome diffus à grandes cellules B et l'exposition au glyphosate. De ce fait, la présomption de lien entre l'exposition au glyphosate et le risque de survenue de LNH a été considérée comme moyenne quelle que soit la catégorie d'emploi (agriculteur ou autres).

Concernant le myélome multiple (MM), l'expertise collective Inserm 2013 n'avait pas pu établir de lien de présomption entre l'exposition au glyphosate et le risque de survenue de cette pathologie car les quelques études cas-témoins, françaises et nord-américaines, ainsi que la cohorte AHS s'appuyaient sur un nombre de cas limité. Récemment, un nouveau suivi de la cohorte AHS n'a pas mis en évidence d'association avec le MM. Cependant, une méta-analyse reprenant des études cas-témoins antérieures y compris certaines données issues de la cohorte AHS a montré un risque augmenté, à la limite de la significativité statistique, chez des agriculteurs exposés au glyphosate. Tenant compte de ces nouvelles données, la présomption de lien au regard du risque de survenue du MM est considérée comme faible (±). Elle repose sur un faible niveau de preuves : risque élevé mais à la limite de la significativité statistique dans une méta-analyse de trois études cas-témoins et d'une cohorte.

Très peu d'informations étaient disponibles concernant l'exposition au glyphosate et la survenue de lymphome de Hodgkin (LH) lors de l'expertise collective Inserm de 2013. La littérature scientifique publiée depuis cette date est peu abondante avec trois études dont une méta-analyse (basée sur deux études cas-témoins antérieures) et un suivi de la cohorte AHS. Aucune association entre l'exposition au glyphosate et la survenue de LH n'a été observée. Au regard de ces résultats, aucune présomption de lien ne peut être établie.

En 2013, l'expertise collective Inserm rapportait une seule étude concernant l'exposition professionnelle au glyphosate et le risque de survenue de leucémies. Cette étude, basée sur la cohorte AHS, suggérait une augmentation du risque dans le deuxième tercile d'exposition au glyphosate. De ce fait, aucune présomption de lien n'a pu être établie et cette étude n'incluait pas

les leucémies aiguës myéloïdes. Depuis 2013, deux méta-analyses ont été publiées à partir des données issues du consortium Agricoh et ont conclu à l'absence d'association avec le risque de survenue de leucémie lymphoïde chronique (LLC). Une troisième analyse a porté sur trois études cas-témoins et a également conclu à l'absence d'association avec la LLC. Deux des trois études cas-témoins ayant évalué le risque de survenue de leucémie à tricholeucocytes ont montré une augmentation du risque, bien que non statistiquement significative, en lien avec l'exposition au glyphosate. Un suivi récent de la cohorte AHS n'a pas confirmé la tendance à l'élévation de risque de LLC mise en évidence antérieurement. Enfin, ce nouveau suivi de l'étude AHS est la première étude à évaluer le risque de leucémie aiguë myéloïde en lien avec l'exposition au glyphosate ; à partir d'un nombre de cas limité, l'étude a rapporté un doublement non significatif du risque de leucémie aiguë myéloïde chez les sujets les plus exposés. Tenant compte de ces derniers résultats de la cohorte AHS, la présomption de lien entre l'exposition au glyphosate et le risque de survenue de leucémies est considérée comme faible.

Le cancer de la prostate et le cancer de la vessie ont fait l'objet d'études en lien avec l'exposition au glyphosate au sein de la cohorte AHS. S'agissant du cancer de la prostate, les différents suivis de la cohorte au cours du temps n'ont pas montré d'excès de risque. Quant au cancer de la vessie, les auteurs ont constaté une élévation de risque mais non statistiquement significative. Actuellement, sur la base des études disponibles, il n'est pas possible d'établir une présomption de lien entre l'exposition au glyphosate et la survenue de cancers de la prostate et de la vessie.

Concernant les pathologies non tumorales, quelques études, majoritairement au sein de la cohorte AHS, indiquent que l'exposition professionnelle dans le secteur agricole à de multiples pesticides, dont le glyphosate, est associée à un risque augmenté de sifflements respiratoires (avec ou sans composante allergique) chez les hommes agriculteurs et applicateurs industriels et d'asthme allergique chez les conjointes applicatrices de pesticides. Compte tenu du nombre limité d'études et du fait que les résultats reposent principalement sur une seule cohorte (AHS), la présomption de lien sur la santé respiratoire est qualifiée de faible.

D'autres travaux, provenant exclusivement de la cohorte AHS, ont signalé un excès de risque d'hypothyroïdie chez les hommes applicateurs de glyphosate, sans pouvoir mettre en évidence une relation dose-effet. Chez les conjointes, elles-mêmes applicatrices de glyphosate, aucune association avec le risque d'hypothyroïdie n'a été observée.

Finalement, différentes études se sont intéressées à la survenue de troubles anxio-dépressifs, de la maladie de Parkinson, de maladies rénales chroniques d'étiologie inconnue chez l'adulte, à la durée de la grossesse, aux caractéristiques staturo-pondérales des nouveau-nés, à des malformations congénitales ou à la survenue de troubles neurocomportementaux chez le jeune enfant en lien avec une exposition professionnelle ou résidentielle au glyphosate. Cependant, la nature des études (écologiques pour la plupart), l'imprécision des mesures d'exposition, les faibles effectifs ou l'incohérence des conclusions, ne permettent pas à ce jour de conclure et donc d'établir de présomption de lien avec une exposition au glyphosate.

Qu'en est-il de la plausibilité biologique des associations observées ? De nombreuses études expérimentales ont été réalisées et celles-ci se sont intéressées au développement de pathologies cancéreuses mais aussi non cancéreuses en regard des données récentes en épidémiologie.

Ces dernières années, le glyphosate a été au centre d'un débat sur sa cancérogénicité. À l'origine se trouve une divergence entre les conclusions du Circ et d'autres agences, nationales ou internationales, chargées du classement et de la réglementation des substances chimiques. Elle s'explique en grande partie par les différentes approches et critères employés.

S'agissant des essais de cancérogénicité chez l'animal de laboratoire tout comme des études de mutagénicité, le niveau de preuve est relativement limité. Cependant, de nombreuses études mettent en évidence des dommages génotoxiques (cassures de l'ADN ou modifications de sa structure). Ces dommages, s'ils ne sont pas réparés sans erreur par les cellules, peuvent conduire à l'apparition de mutations et déclencher ainsi un processus de cancérogenèse. De tels effets sont cohérents avec l'induction directe ou indirecte d'un stress oxydant par le glyphosate, observée chez différentes espèces et systèmes cellulaires, parfois à des doses d'exposition compatibles avec celles auxquelles les populations peuvent être confrontées.

Au-delà de la capacité du glyphosate à induire la production d'espèces réactives de l'oxygène, d'autres caractéristiques toxicologiques ont été décrites. Le glyphosate est utilisé pour bloquer la synthèse des acides aminés chez les plantes. Son mode d'action principal repose sur le blocage d'une enzyme essentielle exprimée par les plantes mais aussi par les champignons et certaines bactéries. Contrairement à ces organismes, les animaux et l'être humain ne possèdent pas le gène codant cette enzyme. Or, des études expérimentales suggèrent des effets délétères en lien avec un mécanisme de perturbation endocrinienne, une toxicité mitochondriale (mitotoxicité associée à des perturbations comportementales dans des modèles comme le poisson

zèbre), une activation des voies œstrogéniques sans liaison aux récepteurs de l'œstradiol ou une altération de la stéroïdogenèse. De nouvelles études publiées depuis 2013, qui demandent à être confirmées, indiquent également une dérégulation de la concentration de neurotransmetteurs (compatibles avec des altérations comportementales), mais aussi du microbiote du système digestif chez plusieurs espèces animales (dont l'humain), cible logique du glyphosate puisque certaines bactéries expriment l'enzyme ciblée chez les plantes. De tels mécanismes mériteraient d'être approfondis et davantage pris en considération dans les procédures d'évaluation réglementaires.

La question environnementale et ses retentissements indirects sur la santé humaine *via* l'hypothèse d'un effet de l'utilisation du glyphosate sur les écosystèmes et leur régulation dépassent le cadre de cette expertise. Elle mériterait d'être abordée dans le cadre de l'approche intégrée et systémique « *One Health* » et devrait être intégrée par les décideurs au même titre que les aspects sociaux et économiques pour la prise de décision.

Fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase

Les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase ou SDHi constituent une famille de fongicides, dont certains, comme la carboxine et le flutolanil sont utilisés depuis plus de trente ans, et d'autres, tels que ceux de seconde génération depuis une dizaine d'années (boscalide, benzovindiflupyr, isopyrazam, penthiopyrade, sédaxane...). Alors que l'utilisation de la première génération de ces pesticides en France a diminué ces dix dernières années, celle des SDHi de nouvelle génération est en hausse et s'élargit à d'autres spectres d'activité (par exemple pour le traitement contre les nématodes sur les gazons).

La population française est potentiellement exposée aux SDHi par l'air, l'alimentation, l'eau, et le sol (utilisation sur les pelouses de stades ou de golfs), ou en milieu professionnel lors de la manipulation et l'épandage des produits. En France, les programmes de surveillance dans les différents milieux s'intéressent à plusieurs SDHi, notamment le boscalide (le plus vendu) qui est surveillé et détecté dans le compartiment aérien et les systèmes aquatiques. Le boscalide, avec le flutolanil et la carboxine ont été inclus dans les études françaises de l'alimentation totale (EAT) qui visent à évaluer le risque pour la santé du consommateur et ils font l'objet (avec le bixafène, le fluopyram, le fluxapyroxade, le penthiopyrade et le benzovindiflupyr) d'une surveillance dans les denrées alimentaires. Au niveau européen, les fongicides SDHi ont été quantifiés dans 2,2 % de plus de 500 000 analyses des échantillons d'aliments réalisées en 2018. Parmi seize SDHi mesurés, le fluopyram et le

boscalide étaient, de loin, les plus souvent quantifiés et le boscalide a dépassé la limite maximale en résidus dans 0,08 % des échantillons testés. Les SDHi ne figurent pas dans les programmes existants de surveillance biologique humaine en France ; par conséquent, il existe très peu de données sur l'imprégnation de la population générale par ces substances. En France, une seule étude académique, portant sur 311 femmes enceintes de la cohorte ELFE, a quantifié le boscalide avec une fréquence de détection de 63 % dans les cheveux. Aucune étude n'a été retrouvée permettant d'évaluer l'exposition des professionnels aux SDHi.

Le mécanisme d'action des fongicides SDHi est basé sur la perturbation du fonctionnement mitochondrial par l'inhibition de l'activité SDH, un complexe enzymatique impliqué dans la respiration cellulaire (complexe II) et donc essentiel à la vie. Chez l'être humain, les conséquences d'une inactivation génétique de la SDH (mutation de l'un des quatre gènes codant les sous-unités de l'enzyme) sont bien documentées avec le développement de pathologies neurologiques et cancéreuses, notamment liées à l'accumulation du substrat de la SDH, le succinate. Un niveau élevé de cet « oncométabolite » peut entraîner des processus associés à la tumorigenèse : notamment une dérégulation de l'homéostasie métabolique, un stress oxydant induisant un état de « pseudo-hypoxie » cellulaire, des modifications épigénétiques, et la mise en place d'une transition épithélio-mésenchymateuse impliquée dans le processus métastatique. Si les perturbations mitochondriales d'origine génétique chez l'être humain prédisposent à de nombreuses pathologies, cela ne signifie pas *ipso facto* qu'une inhibition partielle ou totale de l'activité de la SDH, par exemple dans le cas d'une exposition chronique aux SDHi, entraînerait les mêmes effets physiopathologiques.

Néanmoins, le complexe SDH est fortement conservé entre espèces. En effet, des études de cristallographie et de génétique ont montré que la structure de la SDH est conservée d'une espèce à l'autre avec des séquences peptidiques homologues au niveau du site catalytique. Tout ceci conduit à s'interroger légitimement sur les conséquences délétères des expositions aux SDHi sur la santé humaine et sur la biodiversité. Malgré la conservation de la structure de la SDH au cours de l'évolution, certains travaux suggèrent une variabilité importante du profil d'inhibition de son activité par différents SDHi selon les espèces. Ces études reposent sur des mesures de la concentration inhibitrice médiane (IC_{50}), ce qui correspond, dans ce cas-ci, à la concentration d'un SDHi donné inhibant à moitié l'activité de la SDH. Toutefois, les résultats de ces études sont difficiles à comparer du fait de différences voire de lacunes méthodologiques. Les données actuellement disponibles sont donc insuffisantes pour conclure à une spécificité des SDHi pour la SDH

des champignons et à leur innocuité pour les espèces non-cibles. Pour cela, il est nécessaire d'une part de produire *in vitro* des données d'IC_{50} à partir d'échantillons de nature homogène et d'autre part de générer des données expérimentales *in vivo* dans des modèles animaux, prenant en compte les caractéristiques de toxicocinétique, de toxicodynamique et de biotransformation des SDHi dans les organismes entiers.

Concernant les effets toxiques potentiels des SDHi sur différentes espèces, une série d'études sur les poissons-zèbres, dont la moitié ont été publiées par le même groupe de recherche, montrent que l'exposition aux SDHi pourrait entraîner des anomalies de développement et de nombreuses malformations ainsi que des perturbations du métabolisme, de la fonction thyroïdienne, ou de la reproduction. Ces effets suggèrent que ces fongicides pourraient être considérés, au moins chez cette espèce, comme des perturbateurs endocriniens.

Quelques études ont exploré les effets des SDHi sur les écosystèmes. Elles ont montré que, chez les abeilles, l'exposition au boscalide modifie la composition du microbiote intestinal et a un impact sur le comportement. D'autres études ont mis en évidence des effets délétères sur des organismes du sol (toxicité et effets sur le comportement chez les nématodes et lombrics) et les organismes aquatiques (toxicité chez les algues et effets tératogènes chez des amphibiens). Ces études mériteraient d'être poursuivies afin de documenter les impacts des SDHi sur la biodiversité et éventuellement sur la régulation des écosystèmes et leurs répercussions sur la santé humaine.

Les données de cancérogénicité sur les SDHi, analysées ici, proviennent exclusivement des rapports des agences sanitaires européennes qui publient les conclusions des évaluations des dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché élaborés par les entreprises. Selon ces conclusions, la majorité des SDHi ne présentent aucune génotoxicité. Cependant, pour la majorité des SDHi, les études chez les rongeurs montrent une augmentation de l'incidence des adénomes et des carcinomes dans différents organes : principalement le foie mais aussi la thyroïde, le poumon et l'utérus avec pour certains un dimorphisme sexuel. En dépit de ces observations, la grande majorité des SDHi autorisés au niveau européen ne sont pas classifiés par les instances réglementaires comme des substances susceptibles ou suspectées de provoquer le cancer. Ces conclusions ont été tirées sur la base du mode d'action rapporté par des études industrielles pour rendre compte des effets cancérigènes des SDHi chez le rongeur qui implique l'activation du récepteur nucléaire CAR (*constitutive androstane receptor*). Ce mode d'action est considéré comme spécifique aux rongeurs et n'a pas été jugé pertinent pour l'être humain par les agences sanitaires. Ces problématiques concernant le mode d'action ainsi que les modèles expérimentaux utilisés font encore l'objet de

débat au sein de la communauté scientifique et au sein même des agences et il n'est pas possible d'exclure actuellement que d'autres mécanismes d'action mis en jeu dans la transformation tumorale que celui concernant le récepteur CAR soient impliqués, et pertinents pour l'être humain.

Concernant les tests réglementaires, des réflexions sont en cours au sein de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) sur l'évaluation du potentiel cancérogène des substances non reconnues comme étant génotoxiques telles que les SDHi. Le groupe d'experts international de l'OCDE a reconnu dans cette déclaration de consensus le besoin d'élargir l'évaluation avec des essais *in vitro/ex vivo*, selon une approche intégrative basée sur le concept des voies d'effets indésirables (*adverse outcome pathway*), qui consiste à décrire une séquence logique d'évènements liés de façon causale à différents niveaux d'organisation biologique. Certains mécanismes identifiés par l'OCDE sont pertinents pour les SDHi, dont le stress oxydant et l'épigénotoxicité, alors que d'autres mécanismes d'intérêt qui n'ont pas été retenus pourraient comprendre notamment la mitotoxicité et la transition épithélio-mésenchymateuse. Les tests visant à établir le caractère cancérogène ou non d'une substance pourraient également intégrer la notion d'impact sur la progression tumorale (promotion/métastase), le processus d'initiation criblé notamment par les tests de génotoxicité et de mutagénicité n'étant pas le seul impliqué dans la pathologie cancéreuse. Cependant, faire des recommandations précises sur l'amélioration des essais et des modèles en toxicologie réglementaire nécessiterait d'analyser l'ensemble des processus et des essais utilisés, ce qui dépasse largement le cadre de cette expertise.

Enfin, comme pour tous les pesticides, la toxicologie réglementaire évalue les substances actives et pas les formulations. Or, pour les SDHi, certaines formulations contiennent des fongicides de la famille des strobilurines qui inhibent la respiration cellulaire au niveau du complexe III de la chaîne respiratoire et qui pourraient donc potentialiser les effets sur la fonction mitochondriale. Cela souligne l'importance de tester non seulement les substances actives mais aussi les formulations dans des études de toxicologie.

Concernant les effets chez l'être humain, il n'existe à ce jour pratiquement aucune donnée épidémiologique portant sur les effets possibles des substances actives SDHi sur la santé des agriculteurs ou de la population générale. La seule étude ayant examiné cette question, menée sur les participants de la cohorte ELFE, n'a pas montré d'association entre l'exposition au boscalide pendant la grossesse et la croissance intra-utérine. En utilisant une estimation indirecte de l'exposition aux SDHi, c'est-à-dire en considérant les tâches ou activités agricoles potentiellement exposantes aux SDHi, présents sur le

marché depuis plusieurs décennies et compatibles avec les délais d'apparition de pathologies (par exemple cancéreuses ou dégénératives), les rares données disponibles ne révèlent pas de signal laissant supposer un sur-risque spécifique dans ces populations agricoles. Très peu de données sont donc disponibles chez l'être humain pour évaluer le risque lié à l'utilisation des SDHi. Un renforcement de la biosurveillance humaine, l'exploitation de cohortes existantes (AGRICAN, ELFE...) à court terme et à plus long terme, la mise en place de nouvelles études épidémiologiques, pourraient permettre de mieux cerner les conséquences potentielles d'une exposition professionnelle ou non professionnelle aux SDHi sur la santé humaine.

Analyse

1

Pesticides et santé : la montée des préoccupations

Les questions de santé publique que pose l'usage des pesticides sont nombreuses et concernent des populations multiples, notamment les consommateurs, les populations du secteur agricole mais aussi des professionnels tels que les employés des parcs et jardins et les particuliers qui recourent à ces produits dans leur foyer. Au cours de la dernière décennie, les controverses relatives aux pesticides se sont surtout multipliées en lien avec leurs usages agricoles et leurs effets sur la santé des agriculteurs, des riverains des parcelles agricoles et des consommateurs de produits traités. Largement relayées par les médias spécialisés et généralistes, elles revêtent des dimensions inextricablement politiques et scientifiques. Sur le plan politique, les pesticides ont donné lieu à des mobilisations protestataires particulièrement visibles, mais aussi à des évolutions institutionnelles importantes. Longtemps principalement mis en œuvre par les institutions nationales dédiées à l'agriculture (ministère de l'Agriculture, Mutualité sociale agricole ; MSA), le contrôle des pesticides et la surveillance de leurs effets sanitaires indésirables sont en effet aujourd'hui partagés entre un grand nombre d'acteurs administratifs évoluant à différentes échelles de gouvernement : l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) qui évalue les risques des pesticides et autorise leur mise sur le marché, l'Autorité européenne de sécurité alimentaire (*European food safety authority* ; Efsa) qui homologue les substances actives, l'Agence européenne des produits chimiques (Echa), mais aussi les ministères chargés de la santé, du travail et de l'environnement... Sur le plan de la connaissance scientifique, la période contemporaine est marquée par l'accumulation de données épidémiologiques mettant en évidence un risque augmenté de survenue de certaines pathologies chroniques, comme la maladie de Parkinson, certaines hémopathies malignes ou le cancer de la prostate, parmi les populations les plus exposées aux pesticides (Inserm, 2013). Ces résultats alimentent de nombreux conflits d'interprétation, notamment lorsqu'ils sont mobilisés pour évaluer les effets de pesticides particuliers, comme le chlordécone, le glyphosate et très

récemment les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHi). Ce chapitre décrit ces controverses, qui constituent le contexte de cette expertise collective. Il revient en premier lieu sur la politisation des questionnements relatifs aux liens entre pesticides et santé humaine, avant d'analyser les ressorts des conflits d'interprétation autour des données scientifiques disponibles.

La politisation des interrogations sur les liens entre pesticides et santé humaine

Si des inquiétudes relatives aux effets des pesticides sur la santé humaine sont documentées de longue date par des travaux historiques portant sur la France (Fourche, 2004 ; Jas, 2007 ; Jas, 2010), les conflits politiques relatifs à ces enjeux ont pris une acuité sans précédent dans notre pays. Ces conflits sont alimentés à la fois par des mobilisations protestataires et par la concurrence entre administrations pour le contrôle des politiques publiques dédiées à la protection des populations exposées à ces produits.

Les pesticides et leurs dangers comme objets de mobilisation

L'intensification de l'usage agricole des pesticides à partir de la Deuxième Guerre mondiale a permis une substantielle augmentation des rendements (Fourche, 2004). Cependant, dans les années qui ont suivi, ces produits ont suscité des inquiétudes en raison des risques que leur utilisation massive induit pour la santé et pour l'environnement. Les questions de santé au travail affectant la main d'œuvre agricole font notamment l'objet de l'attention de certains médecins du travail agricole dans les années 1960 (Jas, 2010). Dans certains pays étrangers, comme les États-Unis, ces critiques ont alimenté dès les années 1960 d'importantes mobilisations protestataires, dénonçant les effets nuisibles des pesticides pour les saisonniers agricoles (Nash, 2006), les consommateurs (Whorton, 1974) ou pour la faune sauvage (Bosso, 1987). En France, les premières mobilisations de ce type ne se sont cependant réellement structurées qu'au XXIe siècle. Le début des années 2000 a été marqué par d'importantes controverses sur les effets des pesticides néonicotinoïdes sur la santé des abeilles domestiques. Les enjeux de santé humaine liés à l'utilisation agricole des pesticides sont par la suite progressivement devenus des objets de mobilisation. Si ces mobilisations sont alimentées par la production des données scientifiques, notamment épidémiologiques, qui ont mis en évidence les effets des pesticides sur la santé, elles sont également le produit de mutations sociales, économiques et politiques structurelles.

Ces mobilisations françaises sont d'abord apparues dans le champ de la santé au travail. Suite à l'adoption, en 2002, d'une assurance obligatoire contre les accidents du travail et les maladies professionnelles des non-salariés agricoles, plusieurs exploitants atteints de pathologies susceptibles d'être imputées à leur exposition aux pesticides (maladies neurodégénératives, hémopathies malignes) ont entrepris isolément des démarches en vue de l'obtention d'une reconnaissance de maladie professionnelle. La transformation de cas isolés de travailleurs malades en une cause commune d'agriculteurs s'estimant victimes des pesticides a été rendue possible par l'appui qu'ils ont reçu auprès de militants environnementalistes, de professionnels du droit et de leurs familles, qui les ont aidés à fonder l'association Phyto-victimes en 2011 (Jouzel et Prete, 2013 ; Salaris, 2014). Aujourd'hui, plusieurs associations dénoncent les dangers des pesticides sur la santé des travailleurs agricoles ou des salariés de l'agro-alimentaire, en cherchant à rendre visibles de nouveaux cas de victimes, en exigeant une juste réparation du tort qu'elles ont subi, et en exigeant un plus strict contrôle de ces produits, passant notamment par l'interdiction de l'ensemble des substances actives cancérogènes, mutagènes, toxiques pour la production ou ayant des effets de perturbations endocriniennes. L'émergence de cet enjeu de revendication est le produit de plusieurs mutations sociologiques et politiques conjointes. La mobilisation des agriculteurs de l'association Phyto-victimes apparaît ainsi comme le fruit de l'érosion progressive du monopole longtemps exercé par la Fédération nationale des syndicats d'exploitants agricoles (FNSEA) sur la représentation politique de cette profession, et de l'apparition d'offres de représentation syndicale alternatives et porteuses d'une vision critique du productivisme agricole en général, et de l'intensification du recours aux pesticides en particulier (Jouzel et Prete, 2015). Elle est également une conséquence indirecte des mutations des familles d'agriculteurs : marquées par une hétérogamie sociale croissante au sein des couples (Giraud et Rémy, 2008) et par un alignement progressif du destin scolaire des enfants d'agriculteurs sur celui de la population générale (Giraud et Rémy, 2014), ces familles sont également des espaces sociaux où circule une parole critique sur les pesticides, qui peut servir de vecteur d'indignation pour des agriculteurs lorsqu'ils sont atteints de pathologies imputables à leur exposition à ces produits (Jouzel et Prete, 2016a).

Parallèlement, des groupes de riverains se sont également constitués dans les zones d'arboriculture et de viticulture pour exiger la limitation des épandages à proximité de leurs lieux de résidence ou des bâtiments recevant du public, comme les écoles. D'abord concentrés autour des zones de pomiculture dans le Limousin (Cardon et Prete, 2018), ces mouvements ont essaimé au cours des dernières années dans des régions viticoles comme la Gironde ou la

Champagne, et s'élargissent à de nombreuses zones d'activités agricoles variées. Fortement couverts par les médias locaux et nationaux, ces conflits de voisinage semblent se développer de manière particulièrement marquée dans les territoires urbanisés, longtemps principalement dédiés à l'agriculture et accueillant de nouvelles populations non agricoles en périphérie de centres urbains (Amiet, 2018 ; Cardon et Prete, 2018).

Ces divers mouvements sociaux sont connectés à ceux qui militent en faveur de l'alimentation biologique et dénoncent les dangers des pesticides de synthèse. Une association comme Générations futures, qui porte depuis une vingtaine d'années un discours critique vis-à-vis des méfaits sanitaires et environnementaux de l'agriculture intensive, a ainsi joué un rôle dans la constitution des premiers mouvements de travailleurs agricoles et de riverains s'estimant victimes des pesticides (Jouzel et Prete, 2015). L'alimentation biologique en enjeu de mobilisations collectives est profondément liée aux mutations des marchés alimentaires : croissance de la demande pour des produits issus de l'agriculture biologique, augmentation de la part de la surface agricole cultivée et du cheptel élevé en conformité avec un cahier des charges de l'agriculture biologique, apparition de nouveaux circuits de distribution (Sommier et coll., 2019).

L'ensemble de ces mutations sociales, économiques et politiques qui ont affecté les zones rurales et agricoles ont contribué à rendre visibles les effets des pesticides sur la santé, au-delà des seules publications scientifiques en épidémiologie ou en toxicologie. Les mouvements sociaux qu'elles ont alimentés ont été largement couverts par les médias d'information généralistes, en particulier à l'occasion d'affaires judiciaires qui permettent aux journalistes de mettre en récit des enjeux médicaux complexes, en se focalisant par exemple sur l'opposition entre les populations exposées aux pesticides et les firmes qui mettent ces produits sur le marché (Jouzel et Prete, 2016b). Cet intérêt croissant des médias pour les enjeux sanitaires liés aux pesticides s'inscrit dans le contexte plus général de la structuration, depuis les années 1980-1990, d'un journalisme santé porteur d'un regard critique sur les risques induits par les activités industrielles et sur les failles des institutions chargées de les contrôler (Champagne et Marchetti, 1993).

Couplées à la production de données épidémiologiques sur les effets des pesticides sur la santé humaine, ces mobilisations contestataires ont eu des conséquences en matière d'action publique. Dans le champ de la santé au travail, elles ont par exemple incité le ministère de l'Agriculture à inscrire à l'agenda de la Commission supérieure des maladies professionnelles en agriculture (Cosmap) la création de nouveaux tableaux de maladies professionnelles permettant une meilleure reconnaissance des pathologies

provoquées par les pesticides. Deux nouveaux tableaux de maladies ont ainsi été créés dans le régime agricole de la Sécurité sociale : le tableau 58 « maladie de Parkinson provoquée par les pesticides », en 2012, et le tableau 59 « hémopathies malignes provoquées par les pesticides », trois ans plus tard. Si ces évolutions favorisent une meilleure reconnaissance de certaines maladies professionnelles causées par les pesticides, beaucoup de pathologies imputables à l'exposition à ces produits restent non prises en charge, comme le relève le rapport relatif à la création d'un fonds d'aide aux victimes de produits phytopharmaceutiques publié conjointement par l'Inspection générale des finances, l'Inspection générale des affaires sociales et le Conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux en janvier 2018 (Deprost et coll., 2018). Ce rapport a ainsi recommandé d'élargir le périmètre de l'indemnisation des maladies imputables à l'exposition aux pesticides, en particulier aux « enfants atteints d'une pathologie résultant directement de leur exposition prénatale du fait de l'exposition professionnelle de l'un ou l'autre de leurs parents à des pesticides ». Dans le champ de la santé environnementale, les mobilisations de riverains dénonçant les dangers des pesticides pour leur santé ont trouvé des relais dans les exécutifs locaux, en particulier par l'intermédiaire de maires qui, au cours de la dernière décennie, ont pris des mesures d'interdiction des traitements phytopharmaceutiques dans les espaces publics communaux ou sur les parcelles agricoles situées à proximité de zones d'habitation ou de bâtiments recevant du public. De telles mesures font également l'enjeu de discussions au niveau national qui se sont traduites par l'adoption de la loi n° 2014-110 dite loi « Labbé » du 6 février 2014. La loi de transition énergétique du 22 juillet 2015, par modification des dates d'entrée en vigueur de la loi « Labbé », a ainsi imposé l'interdiction de l'utilisation des produits phytopharmaceutiques dans les espaces publics dès 2017 et dans les jardins privatifs depuis le 1er janvier 2019. Plus récemment, sur la base de recommandations de l'Anses (Anses, 2019), le gouvernement a ouvert un débat public sur l'opportunité d'imposer des zones de non-traitement de 3, 5 ou 10 mètres entre les zones de pulvérisation de pesticides et les zones résidentielles. De manière plus générale, les mobilisations d'agriculteurs et de riverains dénonçant les dangers des pesticides ont eu pour effet d'inscrire durablement cette problématique dans l'agenda politique, et d'en faire un sujet central des discussions relatives à l'avenir des filières agricoles, comme l'ont montré les états généraux de l'alimentation en 2017. Dans ce contexte, un nombre croissant d'institutions publiques se sont saisies de cet enjeu, bien au-delà des acteurs administratifs du monde agricole qui en ont eu historiquement la charge.

Les pesticides et leurs dangers comme objets de concurrences institutionnelles

Les pesticides constituent par définition des produits dangereux, conçus pour contrôler ou détruire des organismes vivants nuisibles pour les cultures (mauvaises herbes, insectes, champignons), les animaux (insectes, helminthes) et autres activités humaines. Leurs effets indésirables sur la santé des travailleurs, des riverains et des consommateurs exposés ont donc fait de longue date l'objet d'un contrôle administratif. Ce dernier a longtemps été principalement exercé par les institutions agricoles. Dès 1943, ces produits ont été soumis à une autorisation de mise sur le marché délivré par le ministère de l'Agriculture, adossée à une évaluation de risque effectuée par une commission d'experts du ministère, la « Commission des toxiques » (Fourche, 2004). Le contrôle administratif des conditions de travail en agriculture et de la protection effective des travailleurs de ce secteur exposés aux pesticides a longtemps relevé d'une inspection du travail à part, l'Inspection du travail, de l'emploi et de la politique sociale agricoles (Michard et Bourrigaud, 2007). De même, la prévention et la réparation des maladies professionnelles agricoles sont le produit de la construction politico-administrative d'un régime de Sécurité sociale et d'une médecine du travail à part pour les travailleurs de l'agriculture (Jas, 2010). Au cours des années 1990, c'est ainsi la MSA, organisme gestionnaire du régime agricole de Sécurité sociale, qui a mis en place le premier système de toxicovigilance destiné à surveiller les éventuels effets délétères des pesticides commercialisés sur leurs utilisateurs professionnels (Dupupet et coll., 2007).

Cette situation a considérablement évolué, et des institutions extérieures au champ de l'agriculture ont occupé une place de plus en plus importante dans les politiques de contrôle des pesticides et de protection des populations exposées. L'évaluation des risques des préparations phytopharmaceutiques a été transférée à partir de 2006 de la Commission des toxiques à l'Agence française de sécurité sanitaire de l'alimentation (Afssa), administration placée sous l'autorité de trois ministères chargés de la santé, de l'agriculture et de la consommation. En 2010, c'est à l'Anses, issue de la fusion de l'Afssa et de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail et placée sous l'autorité des ministères de l'Agriculture, de la Santé, de la consommation, mais également de l'Environnement et du Travail, que cette mission a échu. De même, le ministère de l'Agriculture a été progressivement dépossédé de la gestion des risques pour la santé humaine liés aux pesticides. À partir de 2007, une procédure de consultation des ministères du Travail, de l'Environnement et de la Santé a été instaurée dans le cadre de l'autorisation de mise sur le marché des préparations phytopharmaceutiques. En 2015, le ministère a confié cette mission à l'Anses. Cette agence est

également chargée de la phytopharmacovigilance, et centralise à ce titre l'ensemble des données relatives aux effets indésirables des pesticides sur la main-d'œuvre agricole collectées par la MSA.

De manière générale, un nombre croissant d'acteurs institutionnels extérieurs au champ des politiques agricoles se trouvent donc aujourd'hui impliqués dans l'évaluation, la gestion et la surveillance des risques des pesticides (Jouzel et Prete, 2017). Ce désenclavement des politiques destinées à contrôler les pesticides et leurs effets sur la santé des populations exposées résulte en partie de remises en cause dont les modalités historiques de contrôle des risques des pesticides font l'objet, non seulement de la part de mouvements sociaux, mais également d'institutions gouvernementales nationales et européennes. Au niveau communautaire, la Commission européenne a ainsi rendu en juillet 2017 un rapport pointant les lacunes de l'évaluation des risques des préparations phytopharmaceutiques (Commission européenne, 2017). Au niveau national, l'Assemblée nationale a mis en place en 2017 une mission d'information sur l'utilisation des produits phytopharmaceutiques (Assemblée nationale, 2018) qui pointe les limites d'« une législation complexe et insuffisamment protectrice » ; l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques a quant à lui publié en 2019 un rapport intitulé « Évaluation des risques sanitaires et environnementaux par les agences : trouver le chemin de la confiance », dans lequel une large part est laissée à des enjeux relatifs aux pesticides (Opecst, 2019). De manière générale, la période contemporaine constitue, pour les pouvoirs publics, un moment de profondes interrogations sur la manière dont les risques des pesticides sont évalués et gérés.

La saisine à l'origine du présent rapport d'expertise collective est le produit direct de ces interrogations. Celui-ci fait suite à un rapport commandé en 2017 par les ministres en charge de l'écologie, de la santé et de l'agriculture à leurs inspections générales (Conseil général de l'environnement et du développement durable, Inspection générale des affaires sociales, Conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux) en vue d'évaluer le dispositif réglementant l'utilisation de produits phytopharmaceutiques à proximité des lieux accueillant des personnes vulnérables. L'une des recommandations du rapport final (Gervais et coll., 2019) porte sur la nécessité d'actualiser l'expertise collective « Pesticides : Effets sur la santé » de l'Inserm, datant de 2013. Alors que seule la Direction générale de la santé avait été à l'origine de la demande de cette première expertise collective, ce ne sont pas moins de cinq directions générales ministérielles (la santé, la prévention des risques, le travail, l'alimentation et la recherche) qui se sont associées pour commanditer à l'Inserm le présent rapport.

Les obstacles à la connaissance scientifique

L'accumulation de données scientifiques probantes sur les liens entre pesticides et santé humaine exacerbent les conflits sociaux et politiques autour des pesticides et des modalités de leur contrôle. La récente controverse autour du glyphosate illustre sans doute mieux que toute autre cet état de fait. Celle-ci repose sur un différend entre le Centre international de recherche sur le cancer (sous l'égide de l'Organisation mondiale de la santé), d'une part, et, de l'autre, la plupart des agences nationales et transnationales chargées de l'évaluation des risques des pesticides au sujet de la cancérogénicité de cette substance active présente dans l'herbicide le plus vendu au monde. Alors que le premier a jugé, en mars 2015, « probable » le caractère cancérogène du glyphosate, l'ensemble des secondes s'est opposé à cette catégorisation. Cette divergence d'interprétation a nourri les conflits autour de cette substance et de son éventuelle interdiction. Au-delà du cas du glyphosate, les données scientifiques produites au cours des dernières années (articles publiés dans des revues scientifiques, études menées par les industriels, études menées par des organismes de recherche sous contrat (CRO) mandatés par les industriels…), sur les liens entre pesticides et santé apparaissent souvent contradictoires et ne permettent pas de déterminer des moyens d'action simples pour résoudre les éventuels problèmes identifiés.

La production de données toxicologiques

L'évaluation réglementaire des risques des pesticides repose principalement sur des données de toxicologie expérimentale. Ces données visent à établir pour chaque substance active une dose acceptable d'exposition humaine, et à déterminer les conditions d'utilisation permettant un usage contrôlé des préparations commerciales dans la composition desquelles elles entrent. Les modalités de cette évaluation des risques ont évolué au fil du temps vers une codification toujours plus précise. Celle-ci est le produit d'une histoire transnationale dans laquelle se mêlent la science, la politique et l'économie.

Au cours du dernier quart du XX^{e} siècle, la production et l'interprétation de ces données ont fait l'objet d'une codification de plus en plus précise, d'abord aux États-Unis, où, à la suite de multiples conflits sociaux et politiques relatifs au contrôle des pesticides, l'évaluation des risques de ces produits a été transférée, en 1970, de l'*US Department of Agriculture* à *l'Environmental Protection Agency* (EPA). Dans le but de clarifier auprès des industriels de la phytopharmacie les critères de recevabilité des données de toxicité devant être contenues dans les dossiers de demande d'autorisation ou de maintien de mise sur le marché de leurs produits, l'EPA a alors rédigé un ensemble de lignes directrices précisant

ses attentes en la matière (Jasanoff, 1990). Ces textes encadrent la production de données de toxicité sur les pesticides, qui proviennent essentiellement des firmes du secteur ou des sociétés de conseil auxquelles elles délèguent la rédaction des dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché.

Au cours des décennies suivantes, cette tendance a connu une forte dynamique d'expansion transnationale, dans un contexte marqué par la mondialisation accrue des flux de marchandises alimentaires. Les variations nationales des modalités de l'évaluation des risques des pesticides sont alors de plus en plus apparues comme une source de distorsion de concurrence entre pays producteurs. Les discussions conduites au sein de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) ont conduit à l'adoption de lignes directrices définissant les modalités devant être suivies pour produire des données de toxicité recevables en vue d'évaluer les risques des pesticides préalablement à leur mise sur le marché. À cette harmonisation internationale s'est ajouté un effort d'harmonisation au sein de l'Union européenne. L'Efsa, qui évalue les risques des substances actives par voie alimentaire, a ainsi défini un ensemble de lignes directrices s'imposant à l'ensemble des États membres, même si ceux-ci conservent une marge de manœuvre en matière d'évaluation des risques des préparations commerciales.

Cette évaluation réglementaire des risques a permis de produire, de façon systématique, de nombreuses données de toxicité pour l'ensemble des pesticides commercialisés. Pour autant, elle a été soumise, depuis quelques années à de nombreuses critiques. Certaines d'entre elles, portées notamment par des mouvements sociaux environnementalistes, dénoncent le caractère opaque de l'évaluation des risques, dans laquelle les compositions des formulations fournies par les industriels sont couvertes par le secret commercial. D'autres mettent en avant le poids des industriels du secteur et des sociétés savantes qu'ils financent dans les négociations préalables à l'adoption des lignes directrices et le biais qui peut en découler en leur faveur. En outre, les données de toxicité produites dans le cadre de l'évaluation des risques permettent surtout d'objectiver les effets d'exposition aux pesticides pris individuellement, et sont insuffisants pour évaluer les effets d'expositions diffuses et simultanées à une multiplicité de produits (Jouzel et Dedieu, 2013). De même, certains effets toxiques comme les effets transgénérationnels ou le dimorphisme sexuel, apparaissent peu ou mal pris en considération dans l'évaluation des risques des pesticides. De manière générale, de nombreux travaux de sciences sociales soulignent le risque d'une séparation croissante entre la toxicologie « réglementaire », encadrée par les lignes directrices de l'OCDE ou des agences d'évaluation des risques des pesticides, d'une part, et la recherche académique en toxicologie (Demortain, 2013 ; Jouzel, 2019).

La production de données épidémiologiques

À partir des années 1980, une autre source de connaissances relatives aux effets des pesticides sur la santé humaine est apparue : les études épidémiologiques, qui utilisent des outils et raisonnements statistiques permettant d'identifier des associations entre des pathologies et des facteurs de risque. Les premiers travaux épidémiologiques sur les effets chroniques des pesticides ont été lancés aux États-Unis par le *National Cancer Institute* dans des États agricoles américains comme le Kansas et le Nebraska, pour étudier la santé des agriculteurs exposés à ces produits (Zahm et Blair, 1992). Ces enquêtes portaient principalement sur les hémopathies malignes, qui apparaissaient sur-représentées parmi la population rurale du Midwest. Au cours des décennies suivantes, de nombreuses autres recherches de ce type ont été entreprises aux États-Unis puis en Europe, auprès d'agriculteurs mais également d'autres populations exposées aux pesticides.

Les publications issues de ces recherches ont constitué un important signal d'alarme sur les risques des pesticides. Elles ont, en particulier, montré la sur-incidence, parmi les travailleurs agricoles exposés aux pesticides, de la maladie de Parkinson et de certaines hémopathies malignes, mais aussi du cancer de la prostate (Blair et coll., 1992 ; Acquavella et coll., 1998 ; Inserm, 2013). Elles ont également alimenté les questionnements sur d'autres pathologies susceptibles de résulter de l'exposition professionnelle aux pesticides, comme des tumeurs cérébrales, ou sur les effets de ces produits sur la santé des populations riveraines des parcelles agricoles. Cependant, ces données épidémiologiques restent faiblement prises en compte dans les procédures réglementaires d'évaluation des risques des pesticides, pour plusieurs raisons. En premier lieu, de nombreuses études épidémiologiques s'intéressent aux pesticides sans distinction de familles chimiques ou de matières actives. D'autres prennent en compte diverses familles chimiques ou matières actives, mais n'arrivent pas toujours à distinguer les conséquences des unes et des autres étant donné qu'elles sont souvent corrélées entre elles. De plus, il est parfois difficile de distinguer la contribution d'une matière active de celle d'un adjuvant présent dans la formulation commerciale employée. Ces études soulèvent de plus en plus de questions quant à la fiabilité des données qu'elles utilisent pour estimer les niveaux d'exposition aux pesticides des populations sur lesquelles elles portent (Ntzani et coll., 2013). Le recueil rétrospectif d'informations sur leur emploi à l'aide de questionnaires, sur lequel nombre de ces études reposent, induit par exemple des biais de mémoire particulièrement problématiques dans le cas de populations d'agriculteurs susceptibles d'avoir utilisé des dizaines de produits différents au fil du temps, dans un contexte où, souvent, aucun dispositif systématique, centralisé

et publiquement accessible n'a été mis en place pour recueillir les données d'usage des pesticides dans la plupart des pays. Ces difficultés limitent l'estimation des doses externes sur lesquelles de nombreuses agences se basent pour évaluer les risques. Toutes ces limites méthodologiques sont fréquemment mises en avant par les agences en charge de l'évaluation des risques des pesticides pour relativiser le caractère préoccupant des données produites par les épidémiologistes sur les liens entre pesticides et santé (Efsa, 2017).

De nombreux épidémiologistes ont cherché à rendre plus robustes et plus précises leurs données sur les effets des pesticides sur la santé des populations exposées. Ils ont pour cela développé des enquêtes prospectives de cohorte permettant un suivi sur un temps long des populations exposés et d'estimer l'incidence des pathologies en lien avec leurs expositions aux pesticides (Alavanja et coll., 1996 ; Baldi et Lebailly, 2007). Ils ont également développé des matrices culture-exposition offrant la possibilité, sur la base des savoirs agronomiques disponibles, de remonter dans le temps et d'établir, pour chaque culture, une probabilité, une fréquence et une intensité de l'exposition à chaque pesticide commercialisé (Carles et coll., 2017 ; Ohlander et coll., 2020). Certains ont de plus entrepris de quantifier l'exposition professionnelle et environnementale aux pesticides de manière plus précise en recourant à des outils de dosimétrie active ou passive (Baldi et coll., 2006). Si ces innovations ouvrent la perspective de données épidémiologiques plus facilement interprétables, il reste que les données actuellement disponibles, si elles ne peuvent être ignorées, soulèvent de nombreuses questions sans nécessairement y apporter de réponse claire.

Conclusion

Les pesticides sont des produits potentiellement dangereux pour la santé humaine, et qui font à ce titre l'objet d'une surveillance particulière, mais lacunaire, depuis de nombreuses décennies. Ils sont soumis à une évaluation de risque préalable à toute mise sur le marché et à des dispositifs de toxicovigilance, qui conditionnent leur commercialisation, à la détermination de niveaux acceptables d'exposition humaine et des moyens de ne pas les dépasser. Ce contrôle réglementaire s'appuie principalement sur des données de toxicité expérimentales, et intègre en revanche peu les données épidémiologiques produites en population humaine, qui peuvent rendre visibles leurs effets sur des populations sensibles, ou encore des effets trop rares pour être observables dans les conditions des tests de toxicité *in vivo*, sur de petits échantillons ou sur des périodes de temps courtes. Ces données ont nourri une montée des préoccupations relatives aux effets des pesticides sur la santé

des populations exposées. Ces préoccupations se sont matérialisées dans des mobilisations sociales exigeant un contrôle plus strict des pesticides, voire leur retrait, dans un contexte où ce contrôle échappe de plus en plus aux institutions agricoles. La saisine qui est à l'origine du présent rapport d'expertise collective se trouve à la confluence de l'ensemble de ces éléments.

Références

• Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

Acquavella J, Olsen G, Cole P, *et al*. Cancer among farmers: a meta-analysis. *Ann Epidemiol* 1998 ; 8 : 64-74. •

Alavanja MC, Sandler DP, McMaster SB, *et al*. The Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 1996 ; 104 : 362-9.

Amiet E. *La riveraineté à l'épreuve des pesticides : Analyse exploratoire d'un risque diffus*. Éditions La Discussion, 2018.

Anses. *Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande d'appui scientifique sur les mesures de protection des riverains lors de l'utilisation des produits phytosanitaires*. 2019 : 20 p.

Assemblée nationale. *Rapport d'information par la mission d'information commune sur l'utilisation de produits phytopharmaceutiques*. Paris, 2018 : 220 p [consulté le 10/02/20 : http://www2.assemblee-nationale.fr/documents/notice/15/rap-info/i0852/(index)/rapports-information].

Baldi I, Lebailly P. Cancers et pesticides. *Rev Prat* 2007 ; 57 : 40-4.

Baldi I, Lebailly P, Jean S, *et al*. Pesticide contamination of workers in vineyards in France. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2006 ; 16 : 115-24.

Blair A, Zahm SH, Pearce NE, *et al*. Clues to cancer etiology from studies of farmers. *Scand J Work Environ Health* 1992 ; 18 : 209-15.

Bosso CJ. *Pesticides and politics: The life cycle of a public issue*. Pitt series in policy and institutional studies. Pittsburgh, Pa : University of Pittsburgh Press, 1987 : 294 p.

Cardon V, Prete G. Public conviction with no scientific evidence: undone popular epidemiology and the denunciation of the health effects of pesticides in a French apple-growing region. *Environmental Sociology* 2018 ; 4 : 253-63.

Carles C, Bouvier G, Lebailly P, *et al*. Use of job-exposure matrices to estimate occupational exposure to pesticides : A review. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2017 ; 27 : 125-40.

Champagne P, Marchetti D. L'information médicale sous contrainte. À propos du « scandale du sang contaminé ». *Actes de la recherche en sciences sociales* 1993 ; 101-102 : 40-62.

Commission européenne. *Report on Member State National Action Plans and on progress in the implementation of Directive 2009/128/EC on the sustainable use of pesticides*. Bruxelles, 2017 : 21 p.

Demortain D. Regulatory toxicology in controversy. *Science, Technology, & Human Values* 2013 ; 38 : 727-48.

Deprost P, Eslous L, Toussaint X, *et al*. *La préfiguration d'un fonds d'aide aux victimes de produits phytopharmaceutiques* : IGF – IGAS – CGAAER, 2018 : 285 p. : http://www.igas.gouv.fr/IMG/pdf/2017-M-043-03-DEF.pdf

Dupupet J-L, Berson-Vigouroux N, Jacquet-Libaude F, *et al*. Phyt'attitude : le réseau de toxicovigilance en agriculture. *Rev Prat* 2007 ; 57 : 20-4.

Efsa. Scientific Opinion of the PPR Panel on the follow-up of the findings of the External Scientific Report « Literature review of epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects ». *EFSA Journal* 2017 ; 15 : e5007.

Fourche R. *Contribution à l'histoire de la protection phytosanitaire dans l'agriculture française (1880-1970)*.Université Lyon II. Thèse de Doctorat, 2004.

Gervais V, Mochel F, Aujollet Y, *et al*. *Évaluation du dispositif réglementant l'utilisation de produits phytopharmaceutiques à proximité des lieux accueillant des personnes vulnérables* : IAGS – CGEDD – CGAAER, 2019 : 82 p. : http://www.igas.gouv.fr/IMG/pdf/2018-096R.pdf

Giraud C, Rémy JJ. Être ou ne pas être agriculteur. Capital scolaire et devenir socioprofessionnel des fils d'agriculteurs. In : Gasselin P, Choisis J-P, Petit S, *et al*., eds. *L'agriculture en famille : travailler, réinventer, transmettre*. INRA-SAD-éditions EDP open, 2014 : 305-26.

Giraud C, Rémy J. Les choix des conjoints en agriculture. *Revue d'Études en Agriculture et Environnement* 2008 : 21-46.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1 001 p.

Jasanoff S. *The fifth branch: Science advisers as policymakers*. Cambridge (Mass.), London : Harvard university press, 1990 : 1 302 p.

Jas N. Pesticides et santé des travailleurs agricoles en France. Questions anciennes, nouveaux enjeux. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA* 2010 ; 59 : 47-59.

Jas N. Public health and pesticides regulation in France before and after Silent Spring. *History and Technology* 2007 ; 23 : 369-288.

Jouzel J-N. *Pesticides : Comment ignorer ce que l'on sait*. Presses de Sciences Po, 2019 : 264 p.

Jouzel J-N, Prete G. La normalisation des alertes sanitaires. Le traitement administratif des données sur l'exposition des agriculteurs aux pesticides. *Droit et société* 2017 ; 96 : 241-56.

Jouzel J-N, Prete G. De l'exploitation familiale à la mobilisation collective. La place des conjointes dans un mouvement d'agriculteurs victimes des pesticides. *Travail et emploi* 2016a ; 147 : 77-100.

Jouzel J-N, Prete G. Des journalistes qui font les victimes ? Le traitement médiatique des maladies professionnelles liées aux pesticides. *Études rurales* 2016b ; 198 : 155-70.

Jouzel J-N, Prete G. Mettre en mouvement les agriculteurs victimes des pesticides. Émergence et évolution d'une coalition improbable. *Politix* 2015 ; 111 : 175-96.

Jouzel J-N, Prete G. De l'intoxication à l'indignation. Le long parcours d'une victime des pesticides. *Terrains & travaux* 2013 ; 22 : 59-76.

Jouzel J-N, Dedieu F. Rendre visible et laisser dans l'ombre. Savoir et ignorance dans les politiques de santé au travail. *Revue française de science politique* 2013 ; 63 : 29-49.

Michard C-E, Bourrigaud R. Les relations ministère du Travail/ministère de l'Agriculture : le tournant de Vichy. In : Chatriot A, Join-Lambert O, Viet, eds. *Les politiques du travail (1906-2006) : acteurs, institutions, réseaux*. Rennes : Presses universitaires de Rennes, 2007 : 275-87.

Nash L. *Inescapable ecologies : a history of environment, disease, and knowledge*. Berkeley : University of California Press, 2006 : 332 p.

Ntzani EE, Chondrogiorgi M, Ntritsos G, *et al*. *Literature review on epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects*. European Food Safety Authority (EFSA), 2013 : 159 p.

Ohlander J, Fuhrimann S, Basinas I, *et al*. Systematic review of methods used to assess exposure to pesticides in occupational epidemiology studies, 1993-2017. *Occup Environ Med* 2020 ; epub : 1-11.

Opecst. *Évaluation des risques sanitaires et environnementaux par les agences : trouver le chemin de la confiance*, 2019 : 291 p.

Salaris C. Agriculteurs victimes des pesticides : une nouvelle mobilisation collective en santé au travail. *La Nouvelle Revue du travail* 2014 : en ligne.

Sommier B, Plaud C, Poulain M. La consommation alimentaire biologique comme fait social total. Une analyse ethnomarketing des clients Biocoop. *Management & avenir* 2019 ; 109 : 15-35.

Whorton JC. *Before Silent Spring: pesticides and public health in pre-DDT America*. Princeton : Princeton University Press, 1974 : 302 p.

Zahm SH, Blair A. Pesticides and non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res* 1992 ; 52 : 5485s-5488s.

2
Exposition aux pesticides de la population française[12]

Les données sont aujourd'hui suffisantes pour dresser le constat d'une contamination ubiquitaire de l'environnement par les pesticides et leurs produits de dégradation en France, ainsi que dans de nombreuses autres régions du monde. Cette contamination concerne de nombreux compartiments environnementaux (par exemple eau, sol, air) et s'explique à la fois par les usages professionnels et domestiques, multiples et variés, passés ou actuels, de produits contenant des pesticides. Il en résulte ainsi une exposition continue et régulière de la population générale française à de multiples pesticides, correspondant à des scénarios d'exposition qui peuvent être très divers (Anses, 2010a).

Dans ce chapitre, les données d'imprégnation de la population française seront décrites à travers les études de biosurveillance (« *biomonitoring* ») et l'interprétation de leurs résultats sera discutée et mise en perspective. Après un bilan des résultats sur la contamination des différents compartiments environnementaux en France, les données les plus récentes sur les sources d'exposition possibles de la population française seront décrites, notamment la contamination des aliments et des eaux de consommation, de l'air intérieur des domiciles et des zones riveraines des terres agricoles. Enfin, la méthodologie s'appuyant sur les systèmes d'information géographique permettant de caractériser l'environnement des populations riveraines de zones agricoles et d'estimer l'exposition environnementale aux pesticides sera présentée, et son utilisation dans les études épidémiologiques sera discutée.

12. Chapitre rédigé avec la participation de Noriane Cognez à partir de sa thèse intitulée « Exposition résidentielle aux pesticides pendant la grossesse et santé du jeune enfant », menée sous la direction de Cécile Chevrier et Rémi Béranger, et soutenue à l'Université Rennes 1 le 10 juillet 2020.

Mesurage biologique pour évaluer les expositions aux pesticides

L'exposition de la population générale aux pesticides et à leurs métabolites est complexe à estimer, car cela nécessite de tenir compte de leur grande diversité et de la multiplicité des circonstances d'emploi. L'hétérogénéité géographique et l'évolution temporelle de leurs usages sont des difficultés supplémentaires. À cela s'ajoutent les connaissances insuffisantes concernant les sources d'émission et de dispersion et les voies de pénétration dans l'organisme. Cependant, grâce aux développements de méthodes de chimie analytique, un grand nombre de substances pesticides et leurs métabolites, ou produits de dégradation dans l'environnement, peuvent être identifiés et leurs concentrations mesurées dans le cadre de la surveillance environnementale, dans des prélèvements d'air ou de poussières par exemple, ou dans le cadre de la biosurveillance dans des prélèvements biologiques humains ou provenant d'autres organismes (Yusa et coll., 2015).

L'évaluation des expositions aux pesticides par la mesure de leurs concentrations dans un fluide ou un tissu biologique donné (matrice biologique) est considérée comme l'estimation de référence. Cette mesure représente un substitut (*surrogate*) ou un indicateur de la charge corporelle. Les matrices biologiques possèdent en effet l'avantage de pouvoir intégrer l'ensemble des voies d'exposition et de ce fait les sources d'exposition, même lorsqu'elles ne sont pas toutes identifiées. Cependant, chaque matrice présente des limites qu'il faut prendre en compte au moment d'interpréter les mesures réalisées, notamment au regard des principes qui régissent la toxicocinétique : absorption, distribution, métabolisme et élimination. Contrairement aux expositions par voie orale, les expositions cutanées et par voie respiratoire se retrouvent directement dans la circulation systémique et court-circuitent le premier passage hépatique. Dans certains cas, cela peut faire une importante différence dans la concentration de contaminants réactifs dans les organes cibles. De plus, il ne faut pas sous-estimer l'absorption lymphatique intestinale suite à une exposition par voie orale pour certains contaminants lipophiles, cette route d'absorption n'étant pas impactée par l'effet du premier passage hépatique.

Certaines matrices correspondent à des compartiments internes d'un organisme (sang, tissu adipeux...) pour lesquels prendre en compte l'absorption, la distribution et le métabolisme est essentiel et d'autres à des compartiments que l'on peut qualifier d'externes et qui sont principalement concernés par l'élimination (fèces, urines, phanères...).

D'une manière générale, les matrices internes présentent un intérêt plus particulièrement pour les composés dont la demi-vie dans l'organisme est relativement longue (dits persistants, de plusieurs semaines à plusieurs années comme c'est le cas notamment pour les pesticides organochlorés) ou encore des composés ubiquitaires à demi-vie plus faible traduisant une certaine capacité à s'accumuler dans des compartiments de l'organisme. Cependant, leur obtention oblige à des procédures invasives. Néanmoins, le sang est fréquemment utilisé car il est relativement facile à obtenir (ponction veineuse périphérique), mais aussi parce qu'il est le principal fluide qui transporte et distribue les composés aux divers tissus de l'organisme. La mesure de la concentration d'un composé dans le sang est considérée comme un bon indicateur de sa charge corporelle à un instant (t) à l'état d'équilibre (*body burden at steady state*). D'autres tissus, qui peuvent être potentiellement intéressants, sont moins fréquemment employés, car ils requièrent des méthodes invasives lourdes (biopsies, chirurgie). Les mesurages réalisés dans ces tissus peuvent refléter la capacité à accumuler les composés chimiques, par exemple le tissu adipeux est capable de concentrer des substances lipophiles. Toutefois, c'est au cas par cas, en tenant compte des propriétés intrinsèques de chaque composé et de la nature des tissus cibles, que les concentrations observées peuvent être utilisées comme un indicateur reflétant la charge corporelle. Un cas particulier concerne les mesurages réalisés dans le sang de cordon. Les concentrations dans cette matrice constituent un bon indicateur de l'exposition fœtale au moment de la naissance. Toutefois, il faut garder à l'esprit la possibilité d'une importante variabilité des résultats, car les systèmes enzymatiques et les organes intervenant dans la distribution ou la rétention des composés dans les divers compartiments fœtaux ne sont pas toujours complètement matures à la naissance.

S'agissant des compartiments externes, dont la collecte ne requiert pas de procédures invasives, la matrice la plus employée est l'urine bien qu'elle ne puisse être utilisée que pour des composés (parents ou métabolites) qui sont éliminés, en partie ou totalement, par cette voie. D'une manière générale, cette matrice est surtout employée pour le mesurage des composés à demi-vie plutôt courte (dits semi-persistants ou non persistants, de plusieurs jours à quelques heures). Au moment d'interpréter une mesure urinaire comme indicateur de la charge corporelle, il est nécessaire de tenir compte de la diurèse, mais aussi, et surtout, de la cinétique d'élimination du composé, laquelle dépend de sa demi-vie dans l'organisme. Ces aspects conditionnent le type idoine de prélèvement urinaire : prélèvement ponctuel ou *spot*, premières mictions du matin ou urines de 24 heures. Plusieurs mesures répétées dans le temps sont indispensables s'il est nécessaire de contrôler la variabilité intra-individuelle des concentrations urinaires, qui sont également le reflet

de la variabilité de l'exposition. Dans la pratique, l'urine est la matrice adaptée pour estimer l'exposition à diverses familles chimiques de pesticides et/ou leurs métabolites tels que les organophosphorés et les pyréthrinoïdes.

Au cours de ces dernières années, un intérêt croissant est apparu pour des matrices externes alternatives à l'urine pour estimer l'exposition à des pesticides. La détection de substances chimiques dans les cheveux est depuis longtemps utilisée à des fins médicolégales, par exemple pour identifier des consommations de substances illicites ou médicamenteuses. De par leur croissance (de l'ordre d'environ un cm par mois), l'analyse des cheveux permet également d'estimer la ou les périodes d'exposition en fonction de la longueur de cheveux disponible. C'est ainsi que l'analyse des cheveux en fin de grossesse peut présenter un intérêt pour reconstituer les expositions au cours d'une séquence temporelle correspondant aux 9 derniers mois. Bien que les cheveux représentent une matrice prometteuse, de par leur facilité d'obtention et leur capacité à conserver la mémoire d'une exposition pendant de nombreux mois, l'interprétation des données recueillies reste encore délicate (Kempson et Lombi, 2011 ; Appenzeller et Tsatsakis, 2012). En effet, les processus qui conditionnent le passage des contaminants organiques du sang vers la matrice pilaire et l'efficacité de ce passage en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques et structurales sont encore mal connus. Il est également important de tenir compte de la structure et de la composition des cheveux qui varient selon les origines ethno-géographiques des populations (quantité de kératine, réseau vasculaire du follicule pileux…), ainsi que de la dégradation possible des contaminants dans la matrice pilaire (Kempson et Lombi, 2011). Il en résulte des interrogations sur la validité de ces mesures comme indicatrices de la charge corporelle.

Le méconium est une autre matrice externe qui suscite un grand intérêt pour estimer l'exposition fœtale aux substances chimiques, dont les pesticides (Ostrea et coll., 2008). Le méconium, premières selles du nouveau-né, correspond à l'ensemble des sécrétions intestinales, des cellules desquamées présentes dans le tube digestif et des substances provenant du liquide amniotique ingéré pendant la vie fœtale. La production de méconium s'initie vers le début du deuxième trimestre de grossesse et s'accumule dans le côlon jusqu'à la naissance. Facile à obtenir, cette matrice est confrontée aux mêmes difficultés que les cheveux, car on ignore les processus pharmacocinétiques qui conditionnent l'accumulation des pesticides ou de leurs métabolites dans le méconium.

Une matrice externe particulière est le lait maternel. Les concentrations en composés chimiques correspondent bien à celles qui vont être ingérées par le nourrisson au cours de la période d'allaitement. Cependant, il est important

de distinguer le colostrum du lait définitif tenant compte de leur différence de composition, qui peut conduire à des variations importantes en matière de concentrations de pesticides.

Les progrès de la chimie analytique font que la détection de nombreux composés par des procédures ciblées et dans de multiples compartiments biologiques ne représentent plus une limite. Cependant, si la détection de ces composés témoigne bien d'une exposition réelle (présence ou non), l'interprétation des concentrations observées au regard de l'exposition globale de l'organisme doit tenir compte de la nature de la matrice, des propriétés physico-chimiques, des caractéristiques de toxicocinétique et du métabolisme de la substance. Il est également important de préciser que les concentrations effectivement mesurées dans une matrice donnée ne correspondent pas toujours à celles présentes au niveau de l'organe ciblé par l'effet toxique. Cet aspect est à considérer dans les études épidémiologiques visant à établir des associations entre l'exposition à un pesticide (composé parent ou métabolite) et un évènement de santé.

Une autre difficulté majeure du mesurage biologique est que la nature des substances auxquelles la population suivie est exposée, ou leurs produits de dégradation ou métabolites, doit être connue et anticipée. Les méthodes et les processus analytiques permettant de rechercher un grand nombre de molécules de propriétés physico-chimiques variées à des niveaux de contamination environnementale se développent et connaissent depuis quelques années des progrès importants. Ces méthodes incluent les approches non ciblées, à ce jour à l'état de preuve de concept pour caractériser l'exposition aux pesticides. Elles peuvent aussi représenter un coût important en termes de financements et de temps d'analyses lorsqu'elles sont déployées à large échelle.

En résumé, la mesure des concentrations dans le sang des pesticides organiques persistants, pour la plupart aujourd'hui interdits en France, constitue de bons indicateurs rétrospectifs de l'exposition sur de longues périodes, utilisables dans les études épidémiologiques à visée étiologique. L'exposition aux pesticides non- ou semi-persistants se mesure généralement à partir de matrices biologiques externes, telles que les urines ou plus récemment les cheveux et le méconium. L'interprétation des résultats des mesures biologiques pour estimer l'exposition d'un individu à un pesticide va dépendre de la nature de la matrice et des mécanismes de bio-accessibilité, de métabolisation et de pharmacocinétique de la substance. La pertinence du choix de la matrice et des substances à y mesurer offre encore un champ d'investigation important, incluant l'identification de nombreux métabolites des substances-mères encore inconnus, qu'ils soient spécifiques ou non. Enfin, la multiplicité des substances doit être davantage considérée dans ces mesurages.

Données françaises de biomesurage de pesticides

Les connaissances sur l'exposition professionnelle des travailleurs agricoles français aux pesticides ont été décrites dans le chapitre intitulé « Exposition aux pesticides » de l'expertise collective de 2013 (Inserm, 2013) et ont fait l'objet d'une revue systématique de la littérature récente (Anses, 2016b). Elles ne seront pas abordées ici en détail. Les études analysées visaient généralement à mesurer les contaminations cutanées et respiratoires ou les concentrations urinaires pour certains pesticides pour les mettre en lien avec des observations de terrain sur les pratiques et le matériel. Ces enquêtes permettent de mieux comprendre les déterminants professionnels de l'exposition aux pesticides et ainsi de proposer des mesures de réduction de cette exposition à travers la modification des pratiques, du matériel et des équipements. Alors qu'il est logique que l'usage agricole d'un produit soit associé à une exposition aux pesticides, d'autres tâches agricoles, hors manipulation directe de pesticides, ont elles aussi été associées à des niveaux d'exposition importants et parfois même plus élevés que ceux des utilisateurs (Anses, 2016b). C'est le cas par exemple de la ré-entrée dans des parcelles traitées. La production de données dans ce domaine est encore insuffisante et reste une nécessité.

Les pesticides et leurs produits de dégradation peuvent pénétrer l'organisme par différentes voies d'exposition : *i*) par inhalation lorsqu'ils sont présents dans l'air à l'état gazeux ou en aérosol (liquide sous la forme de fines gouttelettes ou solide sous la forme de poudre), *ii*) par ingestion lorsqu'ils contaminent les aliments ou qu'ils sont fixés aux particules que l'on ingère involontairement (par exemple dans les poussières) par les contacts main-bouche, ou *iii*) par contact cutané direct avec les produits utilisés ou par les molécules présentes dans tout l'environnement, notamment les composés déposés sur les surfaces. Les études qui s'intéressent à mesurer les niveaux des pesticides contemporains ou de leurs métabolites dans les matrices biologiques humaines (le sang, les urines, les cheveux, le lait maternel ou encore le méconium pour le nouveau-né) en population générale française existent depuis une quinzaine d'années. Elles sont peu nombreuses mais montrent toutes une exposition répandue à de multiples substances.

Plusieurs initiatives d'envergure nationale ont permis d'améliorer les connaissances sur l'exposition aux pesticides de la population générale, mais cette connaissance est limitée à quelques familles chimiques particulières et était initialement orientée vers l'exposition alimentaire. Il s'agit, par exemple, de l'Étude nationale nutrition santé menée en 2006-2007 qui avait pour objectifs d'évaluer les apports alimentaires, l'état nutritionnel et l'activité physique

de la population française en lien avec les données de santé (Fréry et coll., 2013). L'étude comprenait un volet environnemental, dont l'objectif était de décrire, pour la première fois, l'exposition de la population française à certains pesticides par l'analyse de prélèvements sanguins et urinaires. Les résultats montraient que les niveaux d'exposition aux pesticides organochlorés sont comparables aux niveaux observés à l'étranger, mais concernant d'autres pesticides plus contemporains, les niveaux français sont notablement plus élevés que ceux observés aux États-Unis ou en Allemagne : principalement les insecticides pyréthrinoïdes (concentration urinaire médiane du métabolite 3-PBA : 0,63 µg/g créatinine) et dans une moindre mesure les pesticides organophosphorés. Le volet périnatal de la stratégie nationale de biosurveillance de la population française, s'appuyant sur la cohorte nationale ELFE (Étude Longitudinale Française depuis l'Enfance) ayant inclus en 2011 près de 18 000 femmes lors de l'accouchement sur toute la France métropolitaine (Charles et coll., 2020), a permis de contribuer à cette connaissance. Les études de la cohorte ELFE ont confirmé la présence ubiquitaire des métabolites de pesticides pyréthrinoïdes dans les urines de femmes françaises (concentration médiane du métabolite 3-PBA : 0,36 µg/l ou 0,50 µg/g créatinine), ce qui pourrait s'expliquer par leur usage domestique et leur usage accru en substitution aux insecticides organophosphorés, et ont montré également une exposition peu fréquente ou absente aux pesticides organophosphorés (cohérent avec la diminution des usages des organophosphorés) et aux herbicides de la famille des triazines (Dereumeaux et coll., 2016a ; Dereumeaux et coll., 2016b ; Dereumeaux et coll., 2018). Enfin, l'étude ESTEBAN (étude de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition)[13] est une étude nationale mise en place en 2014-2016, conduite sur un échantillon représentatif de la population générale composée de 1 104 enfants et 2 503 adultes, et construite pour être répétée tous les 7 ans environ, notamment pour mesurer l'exposition de la population à certaines substances de l'environnement et suivre son évolution à partir de divers prélèvements biologiques. Les premiers résultats concerneront une liste de pesticides appartenant principalement à des familles déjà étudiées et devraient être publiés au cours de l'année 2021.

D'autres études françaises menées au niveau régional et réalisées dans le cadre d'activités de recherche se sont intéressées à des mesures de l'exposition aux pesticides sur des populations particulières, telles que les enfants et les femmes pendant la grossesse. Dès 2004, l'étude EXPOPE (Évaluation de l'exposition de la population aux pesticides dans l'environnement) a mesuré les

13. https://www.santepubliquefrance.fr/etudes-et-enquetes/esteban [consulté le 17 novembre 2020]

métabolites dialkylphosphates (DAP) d'insecticides organophosphorés dans les urines, sur la peau et dans l'air à l'intérieur des logements dans une population résidant en Île-de-France. Les concentrations urinaires médianes des DAP retrouvées dans cet échantillon de 130 enfants et de 41 adultes étaient de 154 nmol/g créatinine et 241 nmol/g créatinine, respectivement (Bouvier, 2005).

En 2008, l'étude PELAGIE (Perturbateurs endocriniens : Étude longitudinale sur les anomalies de la grossesse, l'infertilité et l'enfance), avait pour objectif d'évaluer les conséquences des expositions environnementales aux substances chimiques pendant la grossesse sur le déroulement de celle-ci et la santé de l'enfant à partir d'une approche de cohorte mère-enfant. Elle a montré la présence ubiquitaire de métabolites de pesticides organophosphorés (concentration médiane des métabolites DAP : 42 nmol/g créatinine) et pyréthrinoïdes chez la femme enceinte sur la période 2002-2005 et l'enfant de 6 ans sur la période 2009-2012 en Bretagne, complétés par des prélèvements dans l'environnement intérieur (Chevrier et coll., 2009 ; Glorennec et coll., 2017). Cette étude a également montré la présence chez environ 30 % des femmes enceintes de métabolites urinaires des triazines, famille d'herbicides utilisés jusqu'au début des années 2000 mais qui sont rémanents en particulier dans les eaux (Chevrier et coll., 2011).

Plus récemment, une étude réalisée en Picardie a effectué des dosages de 11 pesticides ou métabolites de pesticides dans des prélèvements de méconium collectés en maternité entre 2011 et 2014 (Haraux et coll., 2018). Les résultats ont permis d'observer des pesticides dans la majorité des prélèvements des 58 nouveau-nés (groupe témoins). Les molécules les plus présentes étaient les insecticides organophosphorés (métabolites diéthylthiophosphates (DETP), chlorpyrifos, diazinon ; concentrations médianes respectives : 82,4 ng/g, 6,6 ng/g et 1,6 ng/g), le propoxur (concentration médiane : 12,1 ng/g) et l'isoproturon (concentration médiane : 7,0 ng/g).

Une analyse d'une sous-cohorte de l'étude ELFE (311 femmes résidant dans les régions Nord-Est et Sud-Ouest) a également apporté de nouvelles connaissances sur l'exposition aux pesticides des femmes enceintes françaises à partir de mesures dans les mèches de cheveux collectées à la naissance de l'enfant (Béranger et coll., 2018). Parmi les 140 molécules recherchées, 122 (87 %) ont été détectées au moins une fois dans les mèches de cheveux. Un minimum de 25 molécules a été retrouvé dans chaque mèche de cheveux. Pour la moitié des femmes, plus de 43 molécules pesticides ont été détectées dans les mèches de cheveux (maximum : 65). L'ensemble des 18 familles chimiques étudiées est retrouvé, objectivant la présence de mélanges complexes de pesticides. Les molécules avec les concentrations médianes les

plus élevées sont d'origine à la fois agricole et non agricole. Par ordre décroissant, les concentrations médianes observées sont égales à 37,9 ng/g de cheveu pour la perméthrine, 10,0 ng/g pour le pentachlorophénol, 7,5 ng/g pour le métabolite DEP (famille des pesticides organophosphorés), 3,5 ng/g pour le métabolite Cl_2CA (famille des pesticides pyréthrinoïdes), 2,7 ng/g pour le métabolite TCPy (spécifique du chlorpyrifos, famille des pesticides organophosphorés), 2,3 ng/g pour le métabolite fipronil sulfone, 1,7 ng/g pour le métabolite 3-PBA (famille des pesticides pyréthrinoïdes), 1,6 ng/g pour le lindane, et 1,1 ng/g pour la cyperméthrine (famille des pesticides pyréthrinoïdes). Parmi les 20 molécules les plus fréquemment détectées, la moitié sont des pesticides ou des métabolites de pesticides classés cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction et 14 sont des perturbateurs endocriniens, selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et la Commission européenne. Enfin, les corrélations observées entre les concentrations des pesticides ou des métabolites mesurées dans les cheveux sont généralement modestes à faibles, en dehors des corrélations observées entre la substance-mère et ses métabolites ou entre substances d'une même famille chimique. Ces résultats suggèrent que la population générale serait exposée à une grande diversité de mélanges de pesticides, complexifiant l'étude des risques associés à ces mélanges.

En résumé, les études qui s'intéressent à mesurer les niveaux des pesticides contemporains ou de leurs métabolites dans les matrices biologiques humaines en population générale française existent depuis une quinzaine d'années. Elles sont peu nombreuses mais montrent toutes une exposition répandue à de multiples substances. Elles sont pour certaines d'envergure nationale mais jusqu'à présent limitées à quelques familles chimiques, et pour d'autres d'envergure régionale, portées par des travaux de recherche, à la fois plus complètes en matière de couverture de molécules d'intérêt pour le contexte français mais plus exploratoires compte tenu d'incertitudes liées aux matrices biologiques choisies. Il est important de rappeler que la détection d'un pesticide, d'un métabolite de pesticide, ou d'un mélange de ces substances dans une matrice biologique humaine atteste très certainement d'une exposition, mais ne peut conduire immédiatement à une interprétation de toxicité ou d'effet sanitaire sans l'analyse de toutes les données associées et disponibles de toxicologie et d'épidémiologie.

Contamination environnementale par les pesticides en France et sources possibles d'exposition de la population générale

Bref aperçu de la contamination environnementale en France

La contamination de l'eau est la mieux documentée depuis plus de vingt ans car la réglementation impose des contrôles sanitaires réguliers pour l'eau de consommation, ainsi des mesures sont effectuées à la fois dans les eaux superficielles et souterraines. D'après le dernier rapport sur l'état de l'environnement en France, publié en 2019 par le ministère de la Transition écologique et solidaire[14], un total de 80 % des masses d'eaux souterraines du territoire français est contaminé par les pesticides : en 2017, près de 300 substances ont été détectées parmi plus de 700 recherchées. Parmi elles, la majorité (57 %) sont des herbicides ou leurs produits de dégradation et 40 % sont des substances actuellement interdites mais rémanentes dans les systèmes d'eau. Le seuil de qualité de 0,5 µg/l pour la concentration totale de pesticides n'est pas respecté pour plus d'un quart (27 %) de la superficie des masses d'eau souterraine. La contamination des cours d'eau en France est également généralisée, et elle est bien documentée[15]. En considérant la limite de qualité réglementaire de 0,1 µg/l pour un pesticide pris isolément, 84 % des points de mesures des eaux de surface dépassent au moins une fois ce seuil sur la période (au moins un échantillon > 0,1 µg/l) avec des différences marquées selon les régions : 100 % des points de mesure dans le bassin Artois-Picardie *versus* 60 % en Rhône-Méditerranée-Corse. Les dépassements réguliers (plus de 3 échantillons > 0,1 µg/l sur la période) concernent, au niveau national, plus de 25 % des points de mesure.

La contamination par les pesticides des milieux marins et littoraux ne bénéficie pas d'obligation réglementaire de contrôle. Des données compilées par l'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (Ifremer) existent cependant depuis plus de 40 ans pour quelques pesticides, pour les eaux mais aussi pour les organismes filtreurs tels que les huîtres ou les moules capables d'accumuler les polluants, et servent ainsi d'indicateur quantitatif de la contamination (programme « *Mussel watch* »). Elles permettent de montrer que les niveaux de concentration en organochlorés (par exemple le

14. https://ree.developpement-durable.gouv.fr/themes/risques-nuisances-pollutions/pollution-de-l-eau-douce/pesticides/article/les-pesticides-dans-les-eaux-souterraines# [consulté le 17 novembre 2020]
15. https://ree.developpement-durable.gouv.fr/themes/risques-nuisances-pollutions/pollution-de-l-eau-douce/pesticides/article/exposition-des-rivieres-aux-pesticides-entre-2015-et-2017 [consulté le 7 décembre 2020]

lindane) ont été réduits jusqu'à un facteur 5 sur l'ensemble de la façade littorale française entre les périodes 1979-1993 et 2001-2004 (Ifremer, 2006). Aux Antilles françaises, la présence du chlordécone dans le milieu marin est régulièrement contrôlée et a poussé les autorités à interdire certaines activités de pêche dans les zones les plus contaminées.

La contamination de l'air extérieur par les pesticides a été documentée depuis quelques décennies pour l'essentiel par les données ponctuelles collectées localement et sous l'initiative des Associations agréées de surveillance de la qualité de l'air (AASQA). Une base de données, PhytAtmo, regroupant ces données pour la période 2002-2017 a été rendue publique récemment (Atmo-France, 2019). Le nombre des pesticides recherchés chaque année par l'ensemble des AASQA en France évolue entre 150 et 250 en fonction des usages régionaux. Entre 40 et 90 substances actives (herbicides, fongicides, insecticides) sont détectées annuellement dans les prélèvements d'air, à des concentrations qui montrent une forte variabilité spatiale et temporelle. Certains composés peu volatils ou interdits sont également retrouvés. Les zones rurales et urbaines sont concernées par une contamination de l'air par des pesticides, suggérant une contribution possible des usages non agricoles ou bien du transport à des distances importantes de molécules utilisées sur les champs. La Campagne nationale exploratoire des pesticides (CNEP) a été initiée en 2018 dans un partenariat entre l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) et le réseau AASQA, promettant des résultats harmonisés sur l'ensemble du territoire français (métropole et outremer) pour 75 substances actives analysées sur 50 sites de prélèvements. Ces substances entrent, selon le cas, dans la composition de produits phytopharmaceutiques, de produits biocides, de médicaments vétérinaires et antiparasitaires à usage humain. Les résultats de cette campagne montrent que seulement 6 substances n'ont jamais été détectées en métropole, contre 43 dans les DROM, reflétant une moindre variété de substances utilisées. Les prélèvements d'air réalisés en zones « urbaines », « périurbaines » ou « rurales » rapportent des résultats similaires. Parmi l'ensemble des substances recherchées, les molécules les plus détectées dans les prélèvements d'air sont le chlorothalonil, le chlorpyrifos-méthyl, le glyphosate, le lindane, le prosulfocarbe, le S-métolachlore, le folpel, la pendiméthaline, et le triallate. Cette campagne a permis dans un premier temps de prioriser la conduite d'investigations plus approfondies sur le lindane (cancérogène et reprotoxique avéré) car il est retrouvé dans près de 80 % des échantillons d'air, et de nouvelles mesures plus systématiques dans l'air pour une liste de 32 substances (dont 9 interdites) (Anses, 2020). Il n'existe pas actuellement de valeurs réglementaires concernant les niveaux de pesticides présents dans l'air.

Les sols sont également concernés par la contamination par des résidus de pesticides et leurs métabolites, mais en l'absence de surveillance réglementaire les données sont parcellaires en France. Des niveaux localement élevés de lindane et d'atrazine ont été mis en évidence dans le Nord de la France en 2008 (Anses, 2010a). Plus récemment, à partir d'une zone atelier dans les Deux-Sèvres, les échantillons de sol de prairies et de cultures de céréales rapportent une présence fréquente (> 80 % des échantillons de sol) de diflufénican, d'imidaclopride, de boscalide et d'époxiconazole, qu'il s'agisse d'agriculture conventionnelle ou biologique, les concentrations observées étant plus faibles dans le cas d'agriculture biologique (Pelosi et coll., 2021).

Contamination alimentaire en France

Les denrées alimentaires contaminées par les pesticides sont une source d'exposition de la population qui est actuellement encadrée en France par divers dispositifs réglementaires de contrôle et de surveillance. Il existe en effet une réglementation européenne sur les teneurs en pesticides des produits destinés à l'alimentation humaine, qui définit les limites maximales de résidus de pesticides (LMR) (CE/396/2005). Ces limites maximales résiduelles sont fixées, non seulement de manière à ne pas présenter de danger en restant bien en deçà des seuils toxicologiques, mais également pour correspondre au niveau le plus faible raisonnablement atteignable compatible avec des « bonnes pratiques agricoles » pour chaque pesticide. Les niveaux de contamination en résidus de pesticides des denrées végétales et animales font l'objet d'une surveillance régulière en France, dont l'objectif est de s'assurer du non-dépassement des LMR mais aussi de vérifier que des produits pesticides interdits ne sont pas encore utilisés. Des mesures administratives ou pénales peuvent être prises à la suite des enquêtes réalisées en cas de non-conformité.

Les mesures au niveau de la production primaire sont prises en charge en France par la DGAL (Direction générale de l'alimentation). La surveillance s'applique également aux niveaux supérieurs de la chaîne alimentaire jusqu'au consommateur, et est prise en charge par la DGCCRF (Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes).

Les plans nationaux de contrôle et de surveillance de l'ensemble des pays de l'Espace économique européen (EEE) font l'objet d'un rapport commun. Dans le rapport basé sur les données de 2016 (Efsa, 2018), 6 773 échantillons végétaux et animaux ont été analysés sur le marché français : 6,4 % des échantillons étaient non conformes et présentaient un dépassement de la LMR pour au moins un pesticide, et près de la moitié (48,3 %) présentaient

des résidus de pesticides quantifiables. L'origine des échantillons était à 45,7 % française, 20,6 % étaient issus de l'EEE, 25,5 % de pays tiers et 8,2 % d'origine inconnue. Au niveau européen, le taux de dépassement des LMR s'élève à 4,5 % pour les légumes (7,7 % pour les légumineuses fraîches ; 7,9 % pour les légumes feuilles-herbes fraîches), 4 % pour les fruits et noix (4,6 % pour les agrumes ; 5,8 % pour les fruits tropicaux et subtropicaux), 1,4 % pour les céréales, 8,1 % pour les autres produits végétaux (11 % pour les épices ; 12,1 % pour le houblon ; 16,2 % pour les thé-café-infusion-cacao), 1,9 % pour les produits animaux (2,2 % pour le lait-produits laitiers et 12,6 % pour le foie) et 1,9 % pour les aliments pour nourrissons et jeunes enfants. Sur les 84 657 échantillons analysés au niveau européen, les pesticides les plus quantifiés (en nombre absolu d'analyses égales ou supérieures à la limite de quantification) sont le boscalide (6 815 dosages), le fludioxonil (4 255 dosages), l'imazalil (4 061 dosages), le cyprodinil (3 721 dosages), l'acétamipride (3 578 déterminations), l'azoxystrobine (3 526 dosages) et le chlorpyrifos (3 371 dosages). Le rapport de l'Efsa a conclu que, d'un point de vue d'une exposition aiguë aux pesticides, la probabilité d'être exposé à des résidus de pesticides dépassant des concentrations susceptibles d'entraîner des effets négatifs sur la santé est faible. De même, l'Efsa a conclu que, selon les connaissances scientifiques actuelles, l'exposition alimentaire à long terme aux pesticides couverts était peu susceptible de présenter un risque pour la santé des consommateurs. Il faut cependant noter que ces études scientifiques sont peu nombreuses et particulièrement complexes à réaliser.

La connaissance de la contamination de l'alimentation est complétée par des études de l'alimentation totale (EAT), mises en place par l'Anses, qui s'appuient sur une méthode standardisée recommandée par l'OMS et visent à rechercher différentes substances susceptibles d'être présentes dans les aliments « tels que consommés » et non plus seulement bruts comme c'est le cas avec les plans de contrôle et de surveillance des aliments. En associant aux résultats analytiques des données de consommations alimentaires, ces études permettent en particulier d'identifier les aliments qui contribuent le plus aux expositions et de caractériser des risques pour la population en tenant compte des apports totaux de chaque substance dans l'alimentation. L'Étude de l'alimentation totale 2 (EAT2 ; Anses, 2011) présente en 2011 des résultats concernant les résidus de 283 pesticides recherchés. « Parmi les 1235 échantillons composites alimentaires analysés (194 items distincts), 37 % présentent au moins un résidu détecté et 30 % au moins un résidu quantifié[16]. Parmi les 463 échantillons présentant des détections (100 items alimentaires distincts),

16. La limite de détection (LOD – *Limit of Detection*) est la plus petite concentration du composé à doser que la méthode analytique est capable de détecter avec un bon niveau de confiance. À partir de cette concentration, on peut affirmer que le composé est présent (le risque que cette

50 % contiennent une seule substance, 41 % de 2 à 5 substances, 8 % de 6 à 10 substances et 1 % plus de 10 substances. Au maximum, 16 substances ont été détectées dans un même échantillon composite. Considérant l'ensemble des substances, 73 (26 %) ont été détectées, dont 55 (19 %) quantifiées à des teneurs variant de 0,003 mg/kg (chlorpyrifos-éthyl dans un échantillon composite de merguez) à 8,7 mg/kg (soufre dans un échantillon composite de salades) ». Rappelons que les limites de détection et de quantification sont définies par les méthodes chimiques analytiques mises en œuvre, et sont très supérieures aux LMR, élaborées pour la protection de la santé humaine. D'après l'analyse des risques pour la population, seul le diméthoate présente une probabilité non nulle de dépassement de la dose journalière admissible avec un risque chronique pour les grands consommateurs de cerises qui ne peut être écarté. Le diméthoate sera par la suite interdit en 2016 en France, en 2019 en Europe et la LMR portée au minimum en 2020[17].

Dans la continuité de ces résultats, l'Étude de l'alimentation infantile (EATi ; Anses, 2016a) présente également en 2016 des mesures de résidus de pesticides dans l'alimentation, avec un focus sur les aliments destinés à l'alimentation des enfants de moins de trois ans : il s'agit d'aliments courants ou alors de préparations spéciales infantiles avec un plus grand nombre de pesticides et de métabolites recherché (n = 469) et une amélioration importante des limites analytiques. « Parmi les 309 échantillons composites analysés, 208 (67 %) présentent au moins un résidu détecté. [...] Parmi les échantillons présentant des détections, 17 % contiennent une seule substance active, 61 % de 2 à 5 substances et 22 % plus de 5 substances. Au maximum, 20 substances ont été détectées dans un même échantillon composite. Parmi les 469 substances et métabolites recherchés, 78 (17 %) ont été détectés, dont 37 (8 %) quantifiés. » L'analyse des risques pour la population suite à ces nouvelles données n'identifie aucun pesticide en particulier.

Les eaux destinées à la consommation humaine représentent le compartiment de l'environnement le plus surveillé en termes de contamination par les pesticides. Il bénéficie de normes réglementaires. L'arrêté du 11/01/2007 (articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique) fixe : *i*) pour les pesticides dans les eaux brutes de toute origine, utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine, une norme de 0,5 µg/l pour chaque pesticide pris individuellement et de 2 µg/l

affirmation soit fausse est faible). En dessous de cette concentration, le signal est trop proche du bruit de fond analytique.
La limite de quantification (LOQ – *Limit of Quantification*) est la plus petite concentration du composé à doser pour laquelle la méthode analytique est capable de donner une valeur quantifiée avec une bonne précision (c'est-à-dire une faible incertitude).

17. https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2020/703/oj [consulté le 8 décembre 2020]

pour la somme de tous les pesticides individualisés détectés et quantifiés (ainsi que leurs métabolites) ; *ii*) pour les pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine une norme de 0,1 µg/l pour chaque pesticide pris individuellement et de 0,5 µg/l pour la somme de tous les pesticides individualisés détectés et quantifiés (ainsi que leurs métabolites). Ces normes, en vigueur dans l'Union européenne, ont été fixées sur la base des limites analytiques de détection de l'époque et ne correspondent pas à des valeurs sanitaires de référence. Quatre pesticides font l'objet de normes plus sévères à 0,03 µg/l : l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore et l'époxyde d'heptachlore. Le dépassement de ces valeurs mesurées dans les points de captage entraîne la non-conformité de l'eau de consommation et des contrôles plus fréquents, mais n'est pas considéré par l'Anses comme un risque sanitaire donc n'entraîne pas de restriction d'usage pour les populations. En 2018, c'est 90,6 % de la population française qui a été alimentée par une eau conforme en permanence ; les dépassements des limites de qualité au moins une fois au cours de l'année ont concerné la quasi-totalité des départements français (DGS, 2019). Depuis 2010 les chiffres ne montrent pas d'amélioration, bien que les comparaisons doivent être faites avec précaution en raison de la variabilité des conditions de mise en œuvre. Il n'existe pas de liste de pesticides définie au niveau national à rechercher dans le cadre du contrôle sanitaire, et le choix des molécules recherchées relève donc de la responsabilité des Agences régionales de santé qui priorisent les substances les plus susceptibles d'être présentes en raison des spécificités locales et notamment des usages agricoles connus. L'amélioration récente des techniques d'analyse en laboratoire permet de rechercher de plus en plus de molécules (entre 100 et 200 molécules dans chaque échantillon d'eau, voire jusqu'à plus de 400 molécules). Pour l'année 2018, la grande majorité des cas de dépassement des limites de qualité de l'eau était causée par cinq molécules herbicides dont l'atrazine et ses métabolites, dont les usages sont interdits au niveau européen depuis 2003 mais qui, rémanents, persistent dans les eaux.

En résumé, les denrées alimentaires et l'eau destinée à la consommation humaine contaminées par les pesticides représentent une source évidente d'exposition possible de la population générale. Divers dispositifs réglementaires de contrôle et de surveillance de cette contamination existent en France et permettent de détecter régulièrement des non-conformités réglementaires ou des contaminations de ces denrées. Dans l'ensemble et selon les connaissances actuellement disponibles, il n'y a pas de risques identifiés associés à ces contaminations pour la santé humaine. Pour un certain nombre de pesticides, il existe un besoin urgent d'acquisition de données pour une évaluation de risque appropriée ; ce manque de connaissances est encore plus

important dans le cas de mélanges de pesticides présents dans l'alimentation ou les pratiques agronomiques.

Contamination des environnements intérieurs français

Il existe très peu de données sur la contamination de l'air intérieur par les pesticides, qui peut être le résultat des usages directs de produits pesticides dans le logement, de l'émanation des substances à partir de biens et matériaux traités (meubles, bois, tapis, matelas...) et de la contamination de l'air extérieur.

Contaminations par l'air

Les résultats de quatre études menées entre 2001 et 2006 rapportés par l'Observatoire des résidus de pesticides font état de 38 substances pesticides détectées au moins une fois sur un total de 84 recherchées (Anses, 2010b). Cinq substances ont été systématiquement mesurées, il s'agissait du chlorpyrifos, de l'α-endosulfan, du fenthion, du lindane et du propoxur. Sur une période similaire, entre 2003 et 2005, l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI) a réalisé sa première campagne « logements » et a confirmé la présence d'insecticides organochlorés tels que le DDT, son métabolite DDE, et le lindane, dans plus de la moitié des logements (phase particulaire de l'air, avec utilisation de filtres PM10). Les deux insecticides organophosphorés (chlorpyrifos, diazinon) étaient peu détectés, alors que la perméthrine était très détectée (76 %) et la molécule-pesticide avec la plus forte concentration parmi les 17 molécules-pesticides recherchées (Mandin et coll., 2016).

Contamination par les poussières

La contamination de l'environnement intérieur par les pesticides a également été étudiée *via* les poussières domestiques (déposées ou en suspension dans l'air). Dans le cadre du projet Ecos-POUSS[18], une campagne de prélèvements dans des logements français représentatifs accueillant des enfants en 2008-2009 a conclu à la présence dans les poussières de plus d'un tiers des logements de : perméthrine (99 %), lindane (66 %), DDE (52 %), cyperméthrine (47 %), et chlorpyrifos (35 %). Les concentrations les plus élevées (P75 : présentes dans au moins 25 % des logements) étaient observées pour

18. Le projet Ecos-POUSS est un projet du Plan national de recherche sur les perturbateurs endocriniens (2011-2014) qui consiste à évaluer la contamination des poussières d'habitation en composés perturbateurs endocriniens dans des logements représentatifs de l'habitat français dont dix-sept pesticides.

la cyperméthrine, le lindane, le chlorpyrifos, et l'oxadiazon (Le Bot et coll., 2014 ; Mandin, 2015). Enfin, plus récemment, l'OQAI fait état d'un profil similaire de contamination par les pesticides dans les écoles du territoire français entre 2013 et 2017 : avec dans l'air, le lindane et son isomère (α-HCH), l'α-endosulfan, le diazinon, la dieldrine, et le chlorpyrifos, et dans les poussières la perméthrine, le lindane et son isomère, le DDT et son métabolite DDE, et la dieldrine (Wei et coll., 2021). Enfin plus récemment, une équipe de recherche a conduit une campagne de prélèvements de poussières en 2012 dans 239 foyers de la région Auvergne-Rhône-Alpes et a permis de détecter au moins une fois 125 pesticides distincts, parmi les 276 recherchés (Béranger et coll., 2019).

Contaminations liées aux usages domestiques de produits pesticides

Les usages domestiques de produits pesticides par les Français sont décrits et quantifiés pour la première fois avec une portée nationale en 2019 par l'étude Pesti'home pilotée par l'Anses (Anses, 2019). L'enquête repose sur un échantillonnage stratifié parmi les ménages de France métropolitaine (n = 1 507) interrogés en 2014 pour renseigner les caractéristiques de l'habitat et les utilisations de pesticides au cours des 12 derniers mois. Un inventaire des produits pesticides présents au domicile a permis également de fournir des informations précises sur les produits et les substances actives présentes dans les foyers français. Dans les 12 derniers mois, 75 % des ménages interrogés rapportent des usages domestiques de produits pesticides, pour majorité des traitements à l'intérieur des logements. Les utilisations sont différentes selon les régions et les caractéristiques des logements, et certaines caractéristiques individuelles des ménages. Le rapport conclut que les ménages qui utilisent le plus fréquemment des produits pesticides sont aussi souvent ceux qui en utilisent un nombre plus important, notamment en traitement des jardins. L'étude montre que 10 familles chimiques différentes sont retrouvées dans les produits stockés dans les foyers français. Les substances actives les plus présentes et utilisées par la population sont : trois insecticides pyréthrinoïdes (cyperméthrine, perméthrine, et tétraméthrine), un herbicide (glyphosate) et un endectocide ou insecticide (fipronil). Enfin, l'étude met en évidence que plus d'un quart des ménages stocke au moins un produit interdit au moment de l'enquête, soulignant un manquement d'information concernant l'évolution rapide des réglementations de ces produits domestiques. L'étude Pesti'home a également été mise en place dans des DROM (Guadeloupe, Martinique, La Réunion) ; la publication des résultats est prévue en 2021.

Les usages domestiques entraînent à la fois une exposition directe des personnes occupant le domicile lors de l'utilisation mais aussi la contamination

de l'environnement intérieur puisque certaines substances peuvent subsister dans l'air ou les poussières des logements. En effet, plusieurs études françaises montrent que les niveaux d'exposition mesurés dans les poussières des logements sont corrélés aux usages domestiques (Glorennec et coll., 2017 ; Béranger et coll., 2019). Ces résultats sont également observés par les études nord-américaines (Deziel et coll., 2017). D'autres travaux français montrent également que les concentrations de métabolites urinaires d'insecticides pyréthrinoïdes sont corrélées aux usages domestiques déclarés de produits pesticides (Dereumeaux et coll., 2018), suggérant une contribution de ces usages domestiques à l'exposition des populations.

En résumé, la contamination de l'environnement intérieur par les pesticides est retrouvée dans l'ensemble des études. Elle est particulièrement bien étudiée par l'OQAI qui s'intéresse également à d'autres polluants et aux mélanges entre tous ces contaminants. Les sources de ces contaminations peuvent être variées et méritent d'être étudiées de façon plus approfondie. Les usages domestiques de produits pesticides dans le logement ou l'émanation des substances à partir de biens et matériaux traités (meubles, bois, tapis, matelas...) sont les premières sources possibles de contamination, ainsi que l'air extérieur. La contribution des usages domestiques de produits-pesticides à l'exposition aux pesticides a longtemps été négligée mais grâce aux données récentes des dix dernières années, on s'aperçoit qu'elle apparaît pourtant non négligeable pour la population française. Ceci incite par précaution à plus de vigilance et d'information auprès du grand public quant à l'usage et le stockage de ces produits.

Contaminations liées à la proximité des lieux de vie aux zones agricoles

Études utilisant des mesures dans les compartiments biologiques et environnementaux

En France, quelques études réalisées en population générale à des échelles régionales se sont intéressées à évaluer en zones riveraines d'activités agricoles, la contamination des environnements intérieurs des habitations par les pesticides ou l'exposition des habitants aux pesticides. Il existe en effet une dérive aérienne des pesticides au moment du traitement et après l'application (par la volatilisation ou par l'érosion éolienne) sur des distances plus ou moins longues selon le mode d'application, les propriétés physico-chimiques des pesticides et les conditions météorologiques (Gurial et coll., 2016). Ces études ont permis de détecter la présence de produits correspondant à des pesticides agricoles dans les poussières domestiques ou les urines de ces habitants ; elles ne permettent cependant pas de conclure que l'activité

agricole voisine contribue fortement à cette exposition (Chevrier et coll., 2014 ; Glorennec et coll., 2017 ; Béranger et coll., 2019). Ces études n'ont toutefois pas été conduites spécifiquement pour cette question limitant la capacité méthodologique déployée pour étudier la dérive des pesticides pendant/après application, et ainsi la portée de ces résultats. Ces études s'appuient en effet sur une approche spatiale précise, mais sans toutefois bénéficier d'une précision temporelle pourtant nécessaire à ce type d'étude. De la même façon, la CNEP (décrite ci-dessus), réalisée à l'échelle nationale en 2018-2019, a permis de fournir des mesures de pesticides dans l'air ambiant couvrant des zones urbaines, péri-urbaines et rurales sur 12 mois (Anses, 2020 ; Ineris et coll., 2020), et n'observe pas de différence significative de fréquences de quantification et de concentrations moyennes annuelles entre ces différentes zones.

La littérature scientifique sur cette question dans le contexte nord-américain est similaire et aboutit au même constat (Deziel et coll., 2015). Une revue de la littérature sur l'exposition aux pesticides des femmes en zones agricoles, recense en particulier 16 études qui s'intéressent au rôle de la dérive des pesticides dans la contamination des habitations, par la mesure de concentrations de pesticides dans les poussières domestiques, en fonction de la proximité aux parcelles agricoles. La moitié des études n'ont pas observé de corrélation entre la distance aux cultures et les concentrations en pesticides dans les poussières des habitations.

En 2017, Deziel et coll. ont réalisé une méta-analyse de 10 études afin d'évaluer les associations (et de quantifier les différences observées) entre les concentrations de pesticides dans les poussières des habitations et trois indicateurs des principales voies d'exposition aux pesticides : l'utilisation de pesticides dans le cadre professionnel par un membre de la famille (forte ou faible selon la fréquence et l'ancienneté), la distance aux cultures et l'utilisation domestique de pesticides. En se basant sur 7 études (incluses dans la revue de Deziel et coll., 2015), les auteurs de la revue ont extrait 52 mesures de pesticides (moyennes géométriques des mesures faites dans chaque étude pour chaque type de pesticides), associées à des distances allant de 10 à 3 690 pieds (soit 3 à 1 100 m environ), avec un écart interquartile allant de 75 à 820 pieds (23 à 250 m). Ces données ont permis de mettre en évidence une association négative non linéaire entre les concentrations de pesticides dans les poussières des habitations et la distance aux cultures, qui correspondait à une diminution de 64 % de la concentration de pesticides dans les habitations situées à 250 m des cultures par rapport aux concentrations dans les habitations situées à moins de 23 m. Cette diminution était estimée à 78 % pour les concentrations en herbicides et fongicides, 51 % pour les

concentrations en insecticides. Par ailleurs, les concentrations en pesticides étaient estimées à des niveaux 2,3 fois plus élevés dans les habitations des agriculteurs utilisant des pesticides de manière importante par rapport aux niveaux mesurés dans les habitations des autres agriculteurs, et 1,3 fois plus élevés dans les habitations avec une utilisation domestique de pesticides par rapport aux autres habitations. Ces résultats donnent des informations quantitatives sur les associations entre les différents indicateurs d'exposition aux pesticides et la concentration mesurée dans les poussières des habitations. Cependant, ces résultats doivent être considérés avec prudence pour plusieurs raisons, outre l'absence de prise en compte de l'échelle temporelle : *i*) le biais de publication est probablement important puisque plusieurs études ayant des résultats non statistiquement significatifs n'ont pu être incluses par manque d'information sur les concentrations de pesticides mesurées ou sur les indicateurs de distances et d'utilisation professionnelle ou domestique de pesticides ; *ii*) la difficulté de prendre en compte simultanément les différentes voies d'exposition ; *iii*) les associations sont parfois estimées à partir d'un petit nombre de mesures de pesticides ; *iv*) les études incluses ont été réalisées principalement dans quelques États du Nord-Ouest des États-Unis, les résultats ne sont donc peut-être pas généralisables à d'autres régions/pays.

D'autres études, réalisées en Europe, ont utilisé une méthodologie intégrant à la fois des données spatiales et temporelles, pour apporter des connaissances sur l'exposition aux pesticides des populations riveraines des activités agricoles.

En 2011 et 2012, au Royaume-Uni, des mesures ont été effectuées dans les urines de personnes résidant à moins de 100 m de parcelles de terres arables ou de vergers traités avec des pesticides (Galea et coll., 2015). Quatre substances pouvant être détectées dans les urines à l'aide de biomarqueurs et qui ont pu être appliquées sur les parcelles sélectionnées ont été retenues dans l'étude : captane, cyperméthrine, chlorméquat et chlorpyrifos. Les prélèvements des urines ont été réalisés jusqu'à 48 h après une application de pesticides sur les parcelles et à d'autres moments pendant et en dehors de la période habituelle d'application (de mars à août). Au total, 156 habitations et 140 participants (non exposés professionnellement aux pesticides) ont été inclus, et 1 518 échantillons d'urines analysés. Pour deux des quatre pesticides d'intérêt, le captane et la cyperméthrine, plus de 80 % des concentrations urinaires étaient inférieures à la limite de détection, quel que soit le moment du prélèvement. Les concentrations urinaires en chlorméquat 48 h après une application étaient comparables à celles mesurées plus tard dans la période d'application de pesticides et un peu plus élevées que celles mesurées en dehors de cette période. Les concentrations en chlorpyrifos mesurées

moins de 48 h après une application étaient quant à elles un peu plus faibles que les concentrations mesurées plus tardivement (pendant ou en dehors des périodes d'application). Il n'y avait pas de différences statistiquement significatives entre les concentrations urinaires en pesticides des hommes et des femmes et entre celles des enfants et des adultes. Dans l'ensemble, pour les pesticides étudiés, cette étude ne montre donc pas d'augmentation des concentrations urinaires chez les riverains de cultures dans les deux jours qui suivent le traitement des parcelles. Par ailleurs, les différences observées selon les périodes de prélèvements ne semblaient pas être expliquées par des facteurs tels que l'âge, le sexe, le statut tabagique, la consommation d'aliments issus de l'agriculture biologique, l'utilisation domestique de pesticides, ou le temps passé à l'intérieur et à l'extérieur de l'habitation 48 h avant l'application de pesticides sur les parcelles agricoles.

En Wallonie, l'étude PROPULPPP[19] coordonnée par l'Institut scientifique de service public a permis d'estimer les concentrations en pesticides dans l'air et les poussières à proximité des cultures (< 50 m), ainsi qu'à plus longue distance de l'application (> 100 m). Les mesures ont été effectuées en 2018 dans les heures et les jours qui suivent des pulvérisations à proximité de parcelles expérimentales (7 pulvérisations, 19 substances), puis dans des écoles et chez des particuliers (540 substances). L'étude a mis en évidence une diminution des dépôts de pesticides au sol en fonction de la distance à la zone traitée, particulièrement dans les 10 premiers mètres, ainsi qu'une diminution en fonction du temps. Les concentrations de pesticides dans l'air ne montraient pas de tendance nette à la diminution en fonction de la distance à la parcelle traitée et du temps, les profils de variations étant différents selon les substances. L'effet positif de la présence d'une barrière-écran (buse anti-dérive et filet anti-insecte) autour des parcelles sur la diminution des concentrations en pesticides au sol, en bordure du champ quelques heures après la pulvérisation, a également été noté.

L'exposition aux pesticides des personnes habitant à proximité des champs de fleurs aux Pays-Bas a été évaluée dans l'étude OBO (*Onderzoek Bestrijdingsmiddelen en Omwonenden*) qui portait sur 80 habitations (164 participants) situées à moins de 250 m de 9 parcelles traitées avec les pesticides par une technique de pulvérisation dirigée vers le bas (Gooijer et coll., 2019). La population « contrôle » était constituée de 28 participants résidant dans 16 habitations situées à plus de 500 m des parcelles agricoles et dans des zones non urbaines. Des prélèvements d'air ont été testés pour 48 pesticides d'intérêt appliqués sur les parcelles voisines, et l'imprégnation des participants a été évaluée par l'analyse des prélèvements d'urine pour 5 substances

19. http://www.cra.wallonie.be/fr/propulppp [consulté le 10 novembre 2020]

actives (asulame, métabolites de chlorprophame, prochloraze, tébuconazole et carbendazime). Les mesures ont été faites au moment des applications de pesticides (pendant 7 jours, en commençant le jour de l'application) et en dehors de ces périodes. La plupart des pesticides ont été retrouvés avec des concentrations plus importantes à moins de 250 m des champs de bulbes qu'à plus de 500 m, surtout à l'extérieur des habitations mais également à l'intérieur, et de façon plus marquée pendant les périodes d'application. Les niveaux de concentrations dans l'air étaient globalement plus importants dans les habitations des cultivateurs que dans celles d'autres riverains de champs de bulbes, les habitations des cultivateurs étant généralement plus proches des champs. Enfin, deux pesticides (chlorprophame et tébuconazole) ont été retrouvés chez plus de la moitié des participants (riverains des champs ou résidents des zones témoins), sans qu'il y ait de lien linéaire entre la distance aux champs et les concentrations urinaires.

En résumé, plusieurs études se sont intéressées à la contamination des lieux de vie par les pesticides à proximité de parcelles agricoles, en considérant les concentrations dans et à l'extérieur des habitations ou les concentrations urinaires des populations résidentes. Les résultats de ces études sont assez hétérogènes. Lorsque les périodes d'applications de pesticides ne sont pas prises en compte, il est difficile de faire le lien avec l'utilisation de pesticides sur les parcelles voisines. Plus récemment, quelques études ont été mises en place afin d'étudier plus précisément les variations de concentrations de pesticides à proximité de parcelles agricoles après application, en fonction de la distance et du temps. Ces études rapportent des concentrations plus importantes de pesticides pendant les périodes d'application sur les parcelles et une diminution en fonction de la distance. Comme cela est attendu, ces profils de variations dépendent des substances actives considérées et du type de mesure effectué (dans l'air, au sol, dans les urines des habitants).

Études utilisant des indicateurs indirects de l'exposition aux pesticides pour caractériser le danger pour les populations riveraines

Depuis quelques années, les épidémiologistes se sont intéressés à la population riveraine de cultures en considérant la proximité de l'habitation aux champs agricoles comme un proxy de l'exposition aux pesticides. Les études dites « écologiques » visent à évaluer la corrélation spatiale entre un indicateur de santé (taux de mortalité, taux d'incidence ou de prévalence d'une maladie) mesuré dans des unités géographiques et un indicateur d'activité agricole défini pour ces mêmes unités (densité de fermes, surface en cultures, quantité de pesticides utilisée sur les cultures...). Les indicateurs d'activité agricole reposent principalement sur des bases de données agricoles locales

ou nationales (voir addenda en fin de chapitre). En France, par exemple, les données du recensement général agricole ont été utilisées dans plusieurs études écologiques afin d'estimer la part de surface en culture dans les communes ou cantons, globalement et pour plusieurs grands types de cultures (céréales, oléagineux, arboriculture, viticulture, pommes de terre, légumes...). Cet indicateur d'activité agricole a été mis en relation avec plusieurs évènements de santé, notamment la croissance fœtale (Petit et coll., 2010), la maladie de Parkinson (Kab et coll., 2017) ou les leucémies aiguës de l'enfant (Coste et coll., 2020).

Des études cas-témoins se sont également intéressées à la présence de cultures à proximité des lieux de résidence des participants en s'appuyant sur la géolocalisation des adresses et en considérant des zones circulaires centrées sur ces adresses (*buffer* ou en français zone tampon), et de taille différente selon les études (rayon entre 100 m et 1 500 m principalement). Plusieurs types de données intégrés dans des systèmes d'information géographique sont utilisés afin de caractériser l'activité agricole dans les zones tampons : registre de parcelles agricoles, données d'occupation du sol provenant d'images satellitaires ou de vues aériennes, données de ventes ou d'utilisation de pesticides... Ces données permettent de déterminer la présence de cultures et d'estimer la surface en culture dans les zones tampons. Ces indicateurs indirects de l'exposition aux pesticides sont utilisés, par exemple, dans le projet Geocap Agri[20] afin d'étudier le lien entre la présence de cultures et l'utilisation de pesticides agricoles à proximité du domicile, et la survenue de cancers chez les enfants. Les parcelles agricoles sont localisées à partir de plusieurs sources de données présentées plus en détail dans l'addenda en fin de chapitre (registre parcellaire graphique, base de données BD Topo de l'Institut géographique national, données satellitaires de *Corine Land Cover*...). Lorsque l'historique résidentiel des participants aux études cas-témoins est connu, il est également possible de calculer des scores cumulés d'exposition aux pesticides. Cette approche a été suivie dans l'étude cas-témoins CERENAT (Carles et coll., 2017) sur le risque de tumeurs cérébrales chez l'adulte dans 4 départements français (Gironde, Calvados, Manche et Hérault), dont les résultats sont détaillés dans le chapitre « Tumeurs du système nerveux central » de la présente expertise collective. Les données satellitaires de la base *Corine Land Cover* et les données communales du recensement général agricole ont été utilisées afin de définir plusieurs

20. Geocap Agri est un projet de recherche mis en place par l'équipe de recherche Inserm EPICEA (épidémiologie des cancers de l'enfant et de l'adolescent, UMR-S 1153 équipe 7) en collaboration avec Santé publique France afin de répondre à une saisine de la Direction générale de la santé sur « pesticides agricoles et cancers de l'enfant » https://rnce.inserm.fr [consulté le 12 janvier 2021].

indicateurs de présence de cultures à proximité des lieux de résidence des participants, les adresses ayant été recueillies par questionnaire et géolocalisées : *i*) la distance à la culture la plus proche, *ii*) le pourcentage de surface en culture dans des zones tampons de 500 m de rayon, centrées sur les adresses de résidence, *iii*) la somme des surfaces en cultures dans les communes de résidence à partir des historiques résidentiels.

En plus de la distance aux cultures, des études ont pris en compte des paramètres qui peuvent influencer le transport des pesticides des parcelles agricoles vers des zones non traitées. Ainsi, une étude s'intéressant à la présence de symptômes respiratoires à l'âge de 7 ans chez les enfants de la cohorte CHAMACOS (enfants nés de familles latino-américaines de faible revenu vivant dans la vallée Salinas en Californie) a pris en compte la direction des vents la semaine qui suivait l'application de pesticides afin de mieux caractériser les niveaux d'exposition à 4 substances particulières dans des zones tampons de 3, 5 et 8 km (Gunier et coll., 2018). L'apport de cette variable et l'impact de sa prise en compte sur les résultats ne sont toutefois pas discutés. En France, dans le cadre du projet POPEYE (Exposition aux pesticides dans la cohorte mères-enfants ELFE et issues de grossesse), une équipe de recherche Irset-Inserm s'intéresse à l'exposition aux pesticides agricoles des femmes enceintes incluses dans la cohorte nationale ELFE, en considérant en particulier la proximité aux zones agricoles comme source d'exposition (projet en cours).

À l'heure actuelle, seules les études réalisées en Californie ont pu associer à la proximité des cultures des informations sur les usages de pesticides. En effet, depuis 1972, l'État de Californie possède un registre des pesticides utilisés sur les parcelles agricoles (*pesticide use report*, PUR), avec en particulier des informations précises sur la localisation de ces parcelles, les substances et les quantités utilisées, le type de culture et la surface traitée, la méthode et la date d'application. Les données sont présentées pour des sections de 1 mile^2 soit environ 2,6 km^2. Elles ont été utilisées dans plusieurs études écologiques réalisées à différentes échelles géographiques (*county*, *census block*, *zip code*) ainsi que dans plusieurs études cas-témoins s'appuyant sur la géolocalisation des adresses de résidence. Pour ces dernières études, les données de cette base ont été combinées dans un système d'information géographique avec les données des études d'occupation des sols, les *Land Use Surveys* (LUS), réalisées tous les 7-10 ans à l'échelle nationale, afin d'associer les données sur les quantités de pesticides provenant des PUR aux différentes parcelles agricoles. Des développements méthodologiques récents ont par ailleurs montré l'intérêt de prendre en compte également les données des satellites de la NASA et de l'institut américain de surveillance géologique

(*U.S. Geological Survey*) pour identifier et caractériser les parcelles agricoles, notamment pour les années non couvertes par les LUS (VoPham et coll., 2015). Des travaux méthodologiques similaires sont en cours de développement dans plusieurs équipes de recherche françaises.

Précaution et limites de ces études

Les études écologiques et les études cas-témoins basées sur la géolocalisation des lieux de résidence présentent l'avantage de pouvoir être menées à grande échelle, et de couvrir ainsi une large population, et sont généralement moins coûteuses que les études cas-témoins dans lesquelles les informations sur les expositions sont recueillies par questionnaires et/ou prélèvements environnementaux ou biologiques. En revanche, les informations sur d'éventuels facteurs de confusion individuels sont généralement plus limitées dans ces études, ce qui peut être problématique si des facteurs individuels sont associés à la pathologie étudiée et à l'indicateur de présence de culture ou d'exposition aux pesticides agricoles considéré. La précision du géocodage des adresses de résidence est un point important également lorsqu'on s'intéresse à la proximité des cultures comme proxy de l'exposition aux pesticides agricoles, ou à tout autre facteur d'exposition qui varie de manière importante sur de courtes distances. Il a été montré, par exemple, que la précision du géocodage peut dépendre de la méthode utilisée (Faure et coll., 2017) et que, de manière générale, le géocodage est plus précis en zone urbaine qu'en zone rurale. Pour construire un indicateur d'exposition cumulée aux pesticides, ou évaluer une exposition ancienne, il est important également de disposer de l'historique complet des lieux de résidence des participants, ce qui peut être très compliqué pour les maladies avec une longue période de latence. Ces aspects ne sont pas toujours pris en compte dans les études et sont peu abordés dans les articles. De même, la précision de l'indicateur d'exposition (présence de culture ou quantité de pesticides utilisée) mérite d'être discutée (Chang et coll., 2014). En effet, dans les études de type géographique, les informations sur l'exposition proviennent souvent de bases de données qui ont été mises en place afin de répondre à des objectifs différents et parfois à des échelles géographiques différentes de celles considérées dans les études (par exemple, caractérisation du territoire à l'échelle européenne pour *Corine Land Cover*, déclaration des surfaces en cultures afin d'obtenir une aide financière dans le cadre de la politique agricole commune pour le registre parcellaire graphique). Ces bases de données sont souvent incomplètes et/ou peu précises. Elles sont réalisées avec des pas de temps parfois longs (10 ans pour les recensements agricoles en France), et ne remontent pour certaines qu'à quelques années (2007 pour le registre parcellaire graphique) ne permettant pas des analyses à la parcelle pour les expositions anciennes.

Pour pallier ce manque d'information historique, une équipe du centre Léon Bérard a développé récemment un algorithme afin d'automatiser l'interprétation de photos aériennes anciennes pour caractériser l'occupation du sol (Ratajczak et coll., 2019). Des données satellitaires historiques avaient également été utilisées par cette équipe pour l'étude TESTIS sur les tumeurs germinales du testicule (Béranger et coll., 2014).

Conclusion

Les données disponibles sur la contamination des différents compartiments de l'environnement (air, eaux, sols) en France indiquent une présence ubiquitaire de pesticides, que ce soient des substances actives ou leurs produits de dégradation. Il peut s'agir de pesticides autorisés au niveau européen ou interdits, y compris depuis plusieurs années car ayant une rémanence importante.

Les études qui mesurent les niveaux de pesticides ou de leurs métabolites dans les matrices biologiques humaines en population générale française montrent toutes une exposition répandue à de multiples substances.

Les origines actuelles ou passées de ces molécules sont multiples : utilisation dans le cadre agricole (pour les cultures, les animaux – y compris la pisciculture – ou les bâtiments d'élevage ou de stockage), entretien des infrastructures de transport (routes, chemins de fer, aéroports...), parcs publics et espaces verts, usages domestiques (jardins, antiparasitaires...). À noter que l'utilisation des produits phytopharmaceutiques de synthèse est interdite depuis 2017 pour les collectivités pour l'entretien des espaces verts et la voirie, et depuis 2019 pour les particuliers (potagers, jardins et plantes d'intérieur).

Depuis quelques années, la contamination des environnements intérieurs par les usages domestiques de pesticides ou par l'épandage de pesticides sur des surfaces proches des lieux de vie a concentré les efforts de recherche. Elles ont pu dans certains cas corréler la concentration de pesticides dans les poussières d'habitations à l'utilisation de pesticides au domicile ou dans des zones autour de la résidence, en fonction de la distance ou des périodes d'application des pesticides. Les résultats de ces études et l'utilisation de méthodes d'évaluation de l'exposition telles que les systèmes d'information géographique devraient permettre de progresser dans l'évaluation de l'exposition aux pesticides des personnes au sein même de leur domicile et l'estimation des risques pour la santé comme cela est illustré dans le cas de certaines pathologies (résultats présentés dans les chapitres correspondants).

Addenda : Principales sources de données disponibles en France

Les principales sources de données actuellement disponibles en France, à l'échelle nationale, pour les études basées sur la géolocalisation des adresses de résidence et la construction de *buffers* autour de ces adresses à l'échelle nationale, sont :

- la base *Corine Land Cover* : données sur l'occupation du sol provenant d'images satellitaires, disponibles pour les années 1990, 2000, 2006, 2012, 2018 sur des polygones de 25 ha minimum ;
- le registre parcellaire graphique, qui rassemble les informations déclarées par les agriculteurs lors des demandes d'aide financière dans le cadre de la politique agricole commune. Ces données sont disponibles depuis 2007, à l'échelle des îlots de culture (avant 2015) ou des parcelles (depuis 2015) ;
- la base de données BD Topo de l'Institut géographique national qui permet de localiser les parcelles en vignes et vergers (sur une période autour de 2010-2015) ;
- le casier viticole informatisé géré par la Direction générale des douanes et droits indirects. Il fournit depuis 2016 des informations sur les parcelles en vignes à partir des déclarations de récoltes faites par les viticulteurs ;
- la banque nationale des ventes de produits phytopharmaceutiques par les distributeurs agréés (BNV-d) rassemble, depuis 2009, les informations sur les ventes de produits phytosanitaires que les distributeurs agréés déclarent annuellement aux agences et offices de l'eau dans le cadre de la loi sur l'eau et les milieux aquatiques. Actuellement ces données sont disponibles à l'échelle de la commune (code postal du distributeur, et plus récemment de l'acheteur).

Ces données sont disponibles (mais difficilement accessibles parfois) pour différentes périodes avec des degrés de précision variables. Des réflexions sont en cours, en particulier à Santé publique France, pour combiner au mieux l'ensemble de ces informations dans un système d'information géographique afin de décrire finement l'espace agricole français et de localiser précisément les parcelles en culture.

Sur le modèle californien, l'utilisation de données satellitaires pourra certainement être envisagée à court terme pour identifier plus précisément les parcelles agricoles en France et pour prendre en compte les variations temporelles, notamment les rotations de cultures sur certaines parcelles. Les matrices cultures-pesticides, par exemple Matphyto mis en place par Santé publique France (Spinosi et Févotte, 2008) ou PESTIMAT de l'Inserm-Isped

(Baldi et coll., 2017), permettent d'associer à différents types de cultures des informations sur les pesticides utilisés, en tenant compte de l'évolution temporelle des pratiques sur plusieurs dizaines d'années et des différences régionales. Comme cela été fait dans une étude récente en Caroline du Nord (Rappazzo et coll., 2019), ces matrices pourront être utilisées également pour estimer les quantités de pesticides appliquées à proximité des habitations.

Références

• Étude financée par un industriel des phytosanitaires

Anses. *Campagne nationale exploratoire des pesticides dans l'air ambiant : Premières interprétations sanitaires*, 2020 : 146 p.

Anses. *Étude Pesti'home : Enquête nationale sur les utilisations domestiques de pesticides*, 2019 : 282 p.

Anses. *Exposition alimentaire des enfants de moins 3 ans à certaines substances – EAT infantile Tome 2 – Partie 4 – Résultats relatifs aux résidus de pesticides*, 2016a : 378 p.

Anses. *Exposition des travailleurs agricoles aux pesticides – Volume 2 : Analyse de la littérature pour les situations françaises*. Anses. Maisons-Alfort, 2016b : 180 p.

Anses. *Avis de l'Anses Rapport d'expertise Étude de l'alimentation totale française 2 – (EAT 2) – Tome 2 – Résidus de pesticides, additifs, acrylamide, hydrocarbures aromatiques polycycliques*, 2011 : 405 p.

Anses. *Exposition de la population générale aux résidus de pesticides en France : Synthèse des données d'utilisation, de contamination des milieux et d'imprégnation de la population*, 2010a : 365 p.

Anses. *Recommandations et perspectives pour une surveillance nationale de la contamination de l'air par les pesticides : Synthèse et recommandations du comité d'orientation et de prospective scientifique de l'observatoire des résidus de pesticides*, 2010b : 55 p.

Appenzeller BMR, Tsatsakis AM. Hair analysis for biomonitoring of environmental and occupational exposure to organic pollutants : state of the art, critical review and future needs. *Toxicol Lett* 2012 ; 210 : 119-40.

Atmo-France. *Dossier de presse relatif à l'ouverture de la base de données PhytAtmo*, 2019 : 10 p.

Baldi I, Carles C, Blanc-Lapierre A, *et al*. A French crop-exposure matrix for use in epidemiological studies on pesticides : PESTIMAT. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2017 ; 27 : 56-63.

Béranger R, Billoir E, Nuckols JR, *et al*. Agricultural and domestic pesticides in house dust from different agricultural areas in France. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019 ; 26 : 19632-45.

Béranger R, Hardy EM, Dexet C, *et al*. Multiple pesticide analysis in hair samples of pregnant French women: Results from the ELFE national birth cohort. *Environ Int* 2018 ; 120 : 43-53.

Béranger R, Perol O, Bujan L, *et al*. Studying the impact of early life exposures to pesticides on the risk of testicular germ cell tumors during adulthood (TESTIS project): study protocol. *BMC Cancer* 2014 ; 14 : 563.

Bouvier G. *Contribution à l'évaluation de l'exposition de la population francilienne aux pesticides*. Université Réné Descartes, Paris V. Paris. Doctorat, 2005.

Carles C, Bouvier G, Esquirol Y, *et al*. Residential proximity to agricultural land and risk of brain tumor in the general population. *Environ Res* 2017 ; 159 : 321-30.

Chang ET, Adami H-O, Bailey WH, *et al*. Validity of geographically modeled environmental exposure estimates. *Crit Rev Toxicol* 2014 ; 44 : 450-66. •

Charles MA, Thierry X, Lanoe J-L, *et al*. Cohort Profile: The French national cohort of children (ELFE): birth to 5 years. *Int J Epidemiol* 2020 ; 49 : 368-369j.

Chevrier C, Serrano T, Lecerf R, *et al*. Environmental determinants of the urinary concentrations of herbicides during pregnancy: the PELAGIE mother-child cohort (France). *Environ Int* 2014 ; 63 : 11-8.

Chevrier C, Limon G, Monfort C, *et al*. Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environ Health Perspect* 2011 ; 119 : 1034-41.

Chevrier C, Petit C, Limon, G, Monfort C, *et al*. Biomarqueurs urinaires d'exposition aux pesticides des femmes enceintes de la cohorte Pélagie réalisée en Bretagne (2002-2006). *Bull Epidemiol Hebd (Paris)* 2009 : 23.

Coste A, Goujon S, Faure L, *et al*. Agricultural crop density in the municipalities of France and incidence of childhood leukemia: An ecological study. *Environ Res* 2020 ; 187 : 109517.

Dereumeaux C, Saoudi A, Goria S, *et al*. Urinary levels of pyrethroid pesticides and determinants in pregnant French women from the Elfe cohort. *Environ Int* 2018 ; 119 : 89-99.

Dereumeaux C, Saoudi A, Pecheux M, *et al*. Biomarkers of exposure to environmental contaminants in French pregnant women from the Elfe cohort in 2011. *Environ Int* 2016a ; 97 : 56-67.

Dereumeaux C, Guldner L, Saoudi A, *et al*. *Imprégnation des femmes enceintes par les polluants de l'environnement en France en 2011 : Volet périnatal du programme national de biosurveillance mis en œuvre au sein de la cohorte Elfe. Tome 1 : polluants organiques*. Saint-Maurice, France : Institut de veille sanitaire, 2016b : 261 p.

Deziel NC, Freeman LEB, Graubard BI, *et al*. Relative contributions of agricultural drift, para-occupational, and residential use exposure pathways to house dust pesticide concentrations: meta-regression of published data. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 296-305.

Deziel NC, Friesen MC, Hoppin JA, *et al.* A review of nonoccupational pathways for pesticide exposure in women living in agricultural areas. *Environ Health Perspect* 2015 ; 123 : 515-24.

DGS. *Bilan de la qualité de l'eau du robinet vis-à-vis des pesticides. Données 2018*.Direction générale de la Santé, 2019 : 12 p.

Efsa. *The 2016 European Union report on pesticide residues in food*. Efsa, 2018 : 139 p.

Faure E, Danjou AMN, Clavel-Chapelon F, *et al.* Accuracy of two geocoding methods for geographic information system-based exposure assessment in epidemiological studies. *Environ Health* 2017 ; 16 : 15.

Fréry N, Guldner L, Saoudi A, *et al. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement : Tome 2 – Polychlorobiphényles (PCB-NDL) et pesticides*. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire, 2013 : 178 p.

Galea KS, MacCalman L, Jones K, *et al.* Urinary biomarker concentrations of captan, chlormequat, chlorpyrifos and cypermethrin in UK adults and children living near agricultural land. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2015 ; 25 : 623-31.

Glorennec P, Serrano T, Fravallo M, *et al.* Determinants of children's exposure to pyrethroid insecticides in western France. *Environ Int* 2017 ; 104 : 76-82.

Gooijer YM, Hoftijser GW, Lageschaar LCC, *et al. Research on exposure of residents to pesticides in the Netherlands : OBO flower bulbs*. Utrecht University, 2019 : 382 p. : https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/475219

Gunier RB, Raanan R, Castorina R, *et al.* Residential proximity to agricultural fumigant use and respiratory health in 7-year old children. *Environ Res* 2018 ; 164 : 93-9.

Gurial C, Bedos C, Ruelle B, *et al. Les émissions de produits phytopharmaceutiques dans l'air : Facteurs d'émissions, outils d'estimation des émissions, évaluations environnementales et perspectives de recherche*. Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME), 2016 : 47 p.

Haraux E, Tourneux P, Kouakam C, *et al.* Isolated hypospadias : The impact of prenatal exposure to pesticides, as determined by meconium analysis. *Environ Int* 2018 ; 119 : 20-5.

Ifremer. *Surveillance du Milieu Marin. Travaux du Réseau National d'Observation de la qualité du milieu marin*. Ifremer et Ministère de l'Écologie et du Développement Durable, 2006 : 56 p. [consulté le 13/01/21].

Ineris, LCSQA, Marliere F, *et al. Résultats de la Campagne Nationale Exploratoire de mesure des résidus de Pesticides dans l'air ambiant (2018-2019)*, 2020 : 535 p. [consulté le 17/02/21].

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1 001 p.

Kab S, Spinosi J, Chaperon L, *et al.* Agricultural activities and the incidence of Parkinson's disease in the general French population. *Eur J Epidemiol* 2017 ; 32 : 203-16.

Kempson IM, Lombi E. Hair analysis as a biomonitor for toxicology, disease and health status. *Chem Soc Rev* 2011 ; 40 : 3915-40.

Le Bot B, Mandin C, Mercier F, *et al*. *Exposition cumulée aux composés organiques semi-volatils dans l'habitat (Projet ECOS-habitat) : évaluation de la contamination des poussières sédimentées (ECOS-POUSS). Programme PNRPE 2010*. 2014 : 62 p. [consulté le 18/02/21].

Mandin C, Mercier F, Ramalho O, *et al*. Semi-volatile organic compounds in the particulate phase in dwellings: A nationwide survey in France. *Atmospheric Environment* 2016 ; 136 : 82-94.

Mandin C. *Contamination des logements français en composés organiques semi-volatils en phase particulaire*. Université Rennes 1. Médecine humaine et pathologie, 2015.

Ostrea EM, Bielawski DM, Posecion NC, *et al*. A comparison of infant hair, cord blood and meconium analysis to detect fetal exposure to environmental pesticides. *Environ Res* 2008 ; 106 : 277-83.

Pelosi C, Bertrand C, Daniele G, *et al*. Residues of currently used pesticides in soils and earthworms: A silent threat? *Agriculture, Ecosystems & Environment* 2021 ; 305 : 107167.

Petit C, Chevrier C, Durand G, *et al*. Impact on fetal growth of prenatal exposure to pesticides due to agricultural activities: a prospective cohort study in Brittany, France. *Environ Health* 2010 ; 9 : 71.

Rappazzo KM, Warren JL, Davalos AD, *et al*. Maternal residential exposure to specific agricultural pesticide active ingredients and birth defects in a 2003-2005 North Carolina birth cohort. *Birth Defects Res* 2019 ; 111 : 312-23.

Ratajczak R, Crispim-Junior CF, Faure E, *et al*. Automatic land cover reconstruction from historical aerial images : an evaluation of features extraction and classification algorithms. *IEEE transactions on image processing: a publication of the IEEE Signal Processing Society* 2019 ; 28 : 3357-71.

Spinosi J, Févotte J. *Le programme Matphyto – Matrices cultures-expositions aux produits phytosanitaires*. Institut de veille sanitaire. Saint-Maurice, France, 2008 : 19 p. [consulté le 13/01/21].

VoPham T, Wilson JP, Ruddell D, *et al*. Linking pesticides and human health: a geographic information system (GIS) and Landsat remote sensing method to estimate agricultural pesticide exposure. *Appl Geogr* 2015 ; 62 : 171-81.

Wei W, Dassonville C, Sivanantham S, *et al*. Semivolatile organic compounds in French schools: Partitioning between the gas phase, airborne particles and settled dust. *Indoor Air* 2021 ; 31 : 156-69.

Yusa V, Millet M, Coscolla C, *et al*. Analytical methods for human biomonitoring of pesticides. A review. *Analytica Chimica Acta* 2015 ; 891 : 15-31.

I

Pathologies neurologiques et atteintes neuropsychologiques

3
Développement neuropsychologique de l'enfant

Il est aujourd'hui établi que l'exposition pendant la grossesse ou la jeune enfance à certaines substances chimiques, telles que le mercure, le plomb, les polychlorobiphényles, et certains solvants incluant l'alcool, peut avoir des conséquences plus ou moins importantes sur le développement psychomoteur et intellectuel et le comportement de l'enfant. Ces conséquences ne sont pas toujours visibles cliniquement sur l'individu, mais ces déficits cognitifs ou ces troubles de comportements, même sous-cliniques, ont un impact sur l'apprentissage et la qualité de vie de l'individu et de son entourage, et finalement sur la société dans son ensemble.

L'expertise collective Inserm de 2013 identifiait les insecticides organophosphorés comme un groupe de molécules ayant ce potentiel de neurotoxicité développementale à partir de la compilation d'études observationnelles réalisées dans la population nord-américaine et d'études sur les mécanismes d'action neurotoxiques (Inserm, 2013). Il n'est pas apparu utile de mettre à jour l'analyse de ces mécanismes dans cette nouvelle expertise. En résumé, des données sur des modèles murins, ou *in vitro* montrent que l'exposition prénatale ou néonatale à un organophosphoré, le chlorpyrifos, s'accompagne de modifications des performances locomotrices ou cognitives (hyperactivité motrice, apprentissage, mémoire). L'exposition de rates gestantes provoque chez les descendants des déficits du nombre de cellules cérébrales, des projections neurales et de la communication synaptique, ou perturbe l'expression des récepteurs sérotoninergiques et la connexion des neurones correspondants avec leurs cibles, ce qui est à l'origine de symptômes évoquant un déficit en sérotonine. Les anomalies provoquées par le chlorpyrifos au cours de la période prénatale (induction de l'apoptose neuronale) sont parfois observées à des doses inférieures à celles nécessaires pour inactiver l'acétylcholine estérase (l'enzyme de dégradation de l'acétylcholine qui joue un rôle fondamental au niveau synaptique pour éviter une accumulation du neurotransmetteur et une sur-stimulation des récepteurs cholinergiques). Plusieurs études suggèrent donc comme mécanisme d'action du chlorpyrifos, une perturbation du système sérotoninergique indépendante de son effet sur l'acétylcholine estérase.

La littérature épidémiologique récente sur les organophosphorés, analysée dans ce chapitre, s'est poursuivie depuis 2013 avec des études de suivi de trois cohortes américaines et elle s'est enrichie avec des nouvelles études de cohortes conduites en Europe et en Asie. L'exposition à d'autres pesticides d'usage récent/contemporain, agricole ou domestique, en particulier les pesticides de la famille des pyréthrinoïdes, ayant une faible persistance dans l'environnement, et ses conséquences possibles sur le développement neuropsychologique de l'enfant sont également décrits dans ce chapitre. Une attention particulière est portée aux schémas d'étude présentant des outils robustes et fiables de mesures de l'exposition et des paramètres de santé, une cohérence temporelle entre les moments de l'exposition d'intérêt et les évènements de santé, et la prise en compte de facteurs de confusion majeurs ; il s'agit souvent de suivis longitudinaux de femmes enceintes et de leurs enfants, appelés cohortes mères-enfants (tableau 3.I, voir en fin de ce chapitre).

En cohérence avec ces nouvelles études épidémiologiques, une analyse des données récentes a été réalisée sur les mécanismes d'action possiblement neurotoxique des insecticides pyréthrinoïdes en période de développement.

Enfin, il est apparu utile de mettre à jour l'analyse de la littérature étudiant le lien possible entre l'exposition à des pesticides par la proximité résidentielle aux zones agricoles et les atteintes neurodéveloppementales chez l'enfant, pour laquelle en 2013 l'expertise collective Inserm ne concluait à aucune présomption de lien.

Exposition des femmes enceintes et des enfants aux insecticides organophosphorés

Conclusion de l'expertise 2013

L'expertise collective Inserm de 2013 concluait à la présomption forte (++) d'un lien entre l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés et les atteintes du neurodéveloppement de l'enfant. Les substances actives identifiées étaient principalement le chlorpyrifos puis le malathion et le méthyl parathion avec une présomption moyenne (+) d'un lien.

Cette conclusion s'appuyait principalement sur les premiers résultats de trois cohortes prospectives mères-enfants conduites aux États-Unis dans des minorités ethniques ou des populations à faibles revenus. À partir d'inclusion de femmes pendant leur grossesse, ces cohortes ont mesuré de façon prospective l'exposition aux pesticides à différents stades de la grossesse à l'aide de

biomarqueurs urinaires ou sanguins, et ont suivi le développement psychomoteur, cognitif et le comportement de l'enfant à différents âges.

Des « déficits de développement cognitif ont été observés chez les enfants de 2-3 ans, associés à des altérations de la motricité fine et de l'acuité visuelle, à une réduction de la mémoire à court terme ainsi qu'à des difficultés attentionnelles, des troubles du comportement, principalement de type hyperactivité, et à la présence de comportements évocateurs de troubles autistiques. Les études ayant évalué le développement des enfants jusqu'à l'âge de 7 ans montrent une diminution du QI global et de la mémoire de travail. L'existence d'une susceptibilité génétique (impliquant le gène *PON1*) de la mère ou de l'enfant semble moduler la force de ces associations ».

Nouvelles données épidémiologiques

Résultats complémentaires des trois cohortes initiales

En poursuivant le suivi des enfants, ces cohortes ont depuis confirmé la présence d'altération des capacités sociales évoquant les troubles du spectre autistique jusqu'à l'âge de 14 ans des enfants en association avec l'exposition prénatale (c'est-à-dire chez la mère) évaluée par les mesures urinaires de métabolites dialkylphosphates (DAP) d'insecticides organophosphorés (deux sous-groupes : diéthyl et diméthyl) : *i*) Sagiv et coll., 2018 pour la cohorte CHAMACOS *Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas* et *ii*) Furlong et coll., 2014 pour la cohorte multiethnique CEHS *Children's Environmental Health Study* de l'hôpital Mount Sinaï à New York (tableau 3.I, voir en fin de ce chapitre).

Dans l'étude CHAMACOS (Vallée de Salinas, Californie, 1999-2000, 601 femmes enceintes), la diminution des points de QI à l'âge de 7 ans en lien avec les concentrations urinaires prénatales de métabolites d'insecticides organophosphorés était plus importante ou parfois seulement observée lorsque le niveau d'adversité sociale, éducative et/ou économique de la famille était plus élevé (Stein et coll., 2016). Par exemple, chez les garçons, la concentration urinaire de DAP maternelle (nmoles/l ; échelle $\log_{10}$) était associée à une perte de 13,3 points de QI (IC 95 % [- 19,9 ; - 6,7]) chez les familles caractérisées par un environnement d'apprentissage faible, et à un gain, non statistiquement significatif, chez les familles ayant un meilleur milieu d'apprentissage (+4,2 points de QI ; IC 95 % [- 4,2 ; 12,5]). L'exposition pendant l'enfance aux insecticides organophosphorés évaluée à différents âges n'a pas été associée de façon cohérente aux performances

cognitives de l'enfant suggérant l'importance particulière de la période d'exposition (Bouchard et coll., 2011).

Une analyse récente d'une sous-population de la cohorte multiethnique CEHS a montré à la fois une diminution du score standardisé de l'indice de mémoire de travail (β = - 0,17 ; IC 95 % [- 0,33 ; - 0,03]) et une amélioration du score standardisé des fonctions exécutives (β = 0,18 ; IC 95 % [0,04 ; 0,31]) parmi huit domaines cognitifs chez les enfants de 7 ans en lien avec la somme des concentrations urinaires (nmoles/l) de métabolites diéthylés (DEP, DETP et DEDTP) ou diméthylés (DMP, DMTP et DMDTP) dans les urines maternelles, respectivement. Une augmentation des troubles du comportement de l'enfant, dits « internalisés » tels que l'anxiété (β = - 0,13 ; IC 95 % [- 0,26 ; 0,00]) a également été mise en évidence en lien avec la somme des métabolites diméthylés (Furlong et coll., 2017a).

L'autre cohorte mise en place à New York par l'Université Columbia (1998-2006, 725 femmes enceintes) et ayant mesuré l'exposition prénatale au chlorpyrifos à partir de mesures sanguines a observé une possible modification de la macrostructure cérébrale des enfants entre 6 et 12 ans en lien avec l'exposition prénatale, à partir d'imagerie à résonnance magnétique réalisée sur 40 enfants de la cohorte (Rauh et coll., 2012). Alors qu'il s'agissait d'une étude-pilote, à notre connaissance ce résultat n'a encore jamais été reproduit. Cette même cohorte a plus récemment suggéré une atteinte de la fonction motrice fine avec la présence de tremblements graphiques (lors d'un exercice d'écriture ou de dessin) pour le quart des enfants âgés entre 9 et 13 ans ayant les niveaux d'exposition prénatale au chlorpyrifos les plus élevés (Rauh et coll., 2015).

Autres cohortes mères-enfants

D'autres cohortes mères-enfants utilisant des outils similaires ont depuis fourni de nouveaux résultats qui ne confirment pas toujours les associations observées antérieurement.

- ***Cohortes états-uniennes***

La cohorte HOME (*Health Outcomes and Measures of the Environment*) a inclus entre 2003 et 2006 un total de 398 femmes enceintes à Cincinnati (Ohio, États-Unis) dont la grossesse a abouti à une naissance vivante. La plupart de ces femmes sont d'origine caucasienne, de niveaux socio-économiques variés, et habitant en région urbaine, semi-urbaine ou rurale. L'exposition aux insecticides organophosphorés a été mesurée à deux reprises pendant la grossesse (à environ 16 et 26 semaines de grossesse) par les

concentrations urinaires de DAP ; les niveaux étaient assez proches de ceux observés dans la précédente cohorte multiethnique de New York et inférieurs à ceux de la cohorte CHAMACOS. À l'aide d'outils standardisés adaptés à chaque âge, le développement psychomoteur, les performances cognitives et les capacités sociales ont été mesurés à différents âges (5 semaines, 1, 2, 3, 4, 5 et 8 ans). Aucune association n'a été rapportée avec l'exposition prénatale pour l'ensemble de ces évaluations neurodéveloppementales (Yolton et coll., 2013 ; Donauer et coll., 2016 ; Millenson et coll., 2017).

Une autre cohorte conduite à Central Ohio, a inclus 174 femmes enceintes entre 2002 et 2005 avec une collecte d'urines aux 2e et 3e trimestres de grossesse (n = 140) et a pu suivre le développement cognitif et moteur de 118 enfants à l'aide du BSID-II *Bayley Scales of Infant Development* à l'âge de 3 mois (Fluegge et coll., 2016). Les femmes incluses étaient majoritairement d'origine caucasienne (85 %) et le revenu moyen observé dans cette cohorte correspondait au niveau de classe moyenne nord-américaine. Cette étude a observé une diminution des performances motrices en association avec les niveaux urinaires du métabolite spécifique au chlorpyrifos (TCPy) mesurés au 3e trimestre de grossesse. Aucune association n'était observée avec le développement cognitif global, ni avec les concentrations urinaires du métabolite spécifique au diazinon (IMPy).

- ***Cohortes européennes***

La cohorte française PELAGIE a inclus 3 421 femmes enceintes en région Bretagne en début de grossesse (< 19 semaines de grossesse) entre 2002 et 2006 avec la collecte d'un prélèvement urinaire dans lequel les DAP ont été mesurés, et a suivi le développement neuropsychologique de 231 enfants âgés de 6 ans (sous-cohorte de familles tirées aléatoirement) à l'aide des mêmes échelles neuropsychologiques utilisées par la majorité des études précédentes. Les femmes de la cohorte étaient pour la plupart d'origine caucasienne et avaient un niveau d'études plus élevé (84 % > bac) que la population des femmes françaises (44 % > bac en 2003). Les concentrations urinaires de DAP étaient similaires à celles observées dans la cohorte HOME. Cette étude n'a pas observé d'association entre les concentrations prénatales en DAP et les performances cognitives des enfants à l'âge de 6 ans (Cartier et coll., 2016). Une altération de la fonction visuelle (diminution de la sensibilité aux contrastes) chez les garçons à l'âge de 6 ans a été suggérée en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés (Cartier et coll., 2018). À notre connaissance, ce résultat n'a pas encore été reproduit par d'autres études.

La cohorte GENERATION R conduite dans la région de Rotterdam aux Pays-Bas, a recruté 2083 femmes enceintes entre 2004 et 2006 avec la collecte de prélèvements urinaires à chaque trimestre de grossesse, dans lesquels les DAP ont été dosés. La cohorte a pu évaluer le développement neuropsychologique de 708 enfants âgés de 6 ans, en particulier le QI non verbal. Les femmes étaient d'une population multiethnique (42 % non néerlandaises), pour la majorité urbaines et 55 % d'entre elles avaient un niveau d'études au moins universitaire. L'étude rapportait une association entre les concentrations de DAP urinaires du 3e trimestre de grossesse (nmol/g créatinine ; échelle $\log_{10}$) et des performances cognitives non verbales diminuées des enfants âgés de 6 ans (β = - 4,3 points de QI ; IC 95 % [- 8,1 ; - 0,6]), tandis qu'aucune association n'était observée avec les concentrations urinaires du 1er ou du 2e trimestre de grossesse ou de la moyenne des trois trimestres (Jusko et coll., 2019). Les femmes de la cohorte GENERATION R présentaient des concentrations urinaires de DAP parmi les plus élevées en comparaison aux autres cohortes nord-américaines et européennes (tableau 3.I, voir en fin de chapitre).

La cohorte *Odense Child Cohort* (OCC) conduite au Danemark dans la région d'Odense, a inclus 2 874 femmes enceintes entre 2010 et 2012, avec une collecte d'échantillons urinaires maternels en fin de 2e trimestre de grossesse, dans lesquels le métabolite TCPy du chlorpyrifos était dosé pour une partie des participantes (Dalsager et coll., 2019). Les femmes étaient invitées à remplir plusieurs questionnaires pendant la grossesse et pendant les premiers mois et années de vie de l'enfant renseignant par exemple le type d'allaitement et sa durée. Elles étaient en majorité non fumeuses (95 %) et avait moins de 30 ans pour la moitié d'entre elles, et un niveau d'études > bac pour 70 % d'entre elles. À l'âge de 2,5 ans de l'enfant, les familles étaient invitées à remplir en ligne un questionnaire standardisé mesurant les troubles de déficits attentionnels, d'hyperactivité et d'impulsivité des enfants (TDAH). Parmi les 948 familles participantes avec une mesure de TCPy réalisée dans les urines maternelles prénatales, aucune association n'a été observée entre les concentrations urinaires et le score de TDAH.

- ***Autres cohortes***

Trois cohortes mères-enfants chinoises et la cohorte mexicaine ELEMENT ont rapporté une association entre les concentrations prénatales en métabolites urinaires d'insecticides organophosphorés et un développement psychomoteur et sensoriel altéré des jeunes enfants de moins de 2 ans (Zhang et coll., 2014 ; Liu et coll., 2016 ; Silver et coll., 2017 ; Wang et coll., 2017 ; Silver et coll., 2018) ou un score plus élevé de troubles de l'attention et

d'hyperactivité entre 6-11 ans (Fortenberry et coll., 2014). Une cohorte chinoise n'a pas reproduit l'association pour le TCPy, métabolite spécifique du chlorpyrifos, malgré des niveaux d'exposition plus élevés que ceux observés en Europe et Amérique du Nord (Guo et coll., 2019).

Autres études sur l'exposition pendant l'enfance aux insecticides organophosphorés

Les études évaluant le rôle possible des expositions pendant l'enfance aux insecticides organophosphorés à l'aide de biomarqueurs urinaires sur le développement de l'enfant ont utilisé pour la plupart un schéma d'étude transversale. Compte tenu de la non-persistance des insecticides organophosphorés dans l'organisme (< quelques jours), ce schéma d'étude ne permet pas de disposer de la cohérence temporelle entre les moments de l'exposition passée potentiellement responsable d'un trouble neurodéveloppemental, rendant ainsi fragiles les conclusions concernant une causalité possible de l'association. Ces études ne sont donc pas commentées en détails ici. De façon générale, les expositions maternelles pendant la grossesse et celles mesurées pendant l'enfance étaient peu corrélées entre elles. Deux études européennes ont suggéré une diminution du QI des enfants âgés de 6-11 ans en lien avec les concentrations en métabolites DAP mesurés dans les urines recueillies le matin du jour de l'évaluation neuropsychologique (Gonzalez-Alzaga et coll., 2015 ; Cartier et coll., 2016), alors que l'étude CHAMACOS n'observait pas d'altération des performances cognitives à l'âge de 7 ans en lien avec les expositions actuelles et antérieures mesurées pendant l'enfance (Bouchard et coll., 2011).

Deux études nord-américaines (Bouchard et coll., 2010 ; Marks et coll., 2010) et une étude taïwanaise (Yu et coll., 2016) ont suggéré un lien entre l'exposition de l'enfant aux insecticides organophosphorés et la présence de déficits attentionnels avec ou sans troubles évoquant une hyperactivité, alors qu'une étude canadienne de grande envergure (n = 779 enfants de 6-11 ans) n'a pas reproduit ce résultat (Oulhote et Bouchard, 2013).

En résumé, il existe à ce jour un grand nombre d'études de bonne qualité, en particulier des cohortes de suivi de femmes pendant la grossesse et de leurs enfants, s'intéressant au rôle de l'exposition aux insecticides organophosphorés pendant la grossesse sur le développement neuropsychologique et le comportement de l'enfant. Plusieurs travaux de revue et d'analyses « poolées » ont été conduits (González-Alzaga et coll., 2014 ; Engel et coll., 2016 ; Sapbamrer et Hongsibsong, 2019). Les déficits cognitifs observés par les premières études jusqu'à l'âge de 7 ans en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés n'ont pas été observés ni à des âges

ultérieurs par ces mêmes cohortes, ni par deux des quatre études européennes et nord-américaines plus récentes. Une étude européenne ayant parmi les niveaux d'exposition les plus élevés a observé une diminution des performances cognitives des enfants uniquement lorsque l'exposition a eu lieu en fin de grossesse.

Les populations des études plus récentes représentent des groupes plus éduqués et moins vulnérables à d'autres facteurs de risque que celles des premières études conduites dans des minorités ethniques ou des populations à faibles revenus. Ainsi, l'apparente contradiction des résultats pourrait s'expliquer par une ou plusieurs des hypothèses suivantes : l'existence d'une vulnérabilité sociale face à ces expositions (suggérée par Stein et coll., 2016), une réversibilité possible des effets par des stimulations cognitives reçues de l'environnement de l'enfant et/ou la disponibilité de mécanismes de compensation mis en place lors d'un déficit cognitif, et une susceptibilité génétique des populations noires et hispaniques. Aussi, l'usage des insecticides organophosphorés ayant diminué ces deux dernières décennies en Europe et Amérique du Nord, les sources d'exposition et/ou les combinaisons (mélanges) d'insecticides organophosphorés présents dans les produits agricoles et domestiques ont varié. Il est possible que les concentrations urinaires en DAP observées dans les études les plus récentes soient en majorité d'origine alimentaire alors que les populations des études initiales, californiennes et new-yorkaises, étaient selon les auteurs fortement exposées via les usages agricoles voisins et les usages domestiques fréquents. Les molécules organophosphorées peuvent être converties en DAP à la surface ou à l'intérieur des fruits et légumes par hydrolyse, photolyse ou les enzymes du métabolisme des plantes. Les concentrations urinaires de cette forme dégradée *non toxique* des insecticides organophosphorés (DAP) pourraient ainsi représenter pour les études les plus récentes un moins bon marqueur d'exposition à des insecticides organophosphorés.

Les résultats suggérant des altérations du développement psychomoteur et de l'acuité visuelle chez le jeune enfant en lien avec une exposition prénatale aux insecticides organophosphorés sont confirmés par la plupart des nouvelles études chinoises.

Enfin, malgré une compilation de résultats encore hétérogènes, une attention particulière peut être portée sur une atteinte possible des capacités sociales des enfants avec des comportements évocateurs du spectre autistique, observée jusqu'à un âge adolescent, en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés.

Un rôle de l'exposition aux insecticides organophosphorés pendant l'enfance sur le développement neuropsychologique et le comportement de l'enfant

n'a pas été observé, excepté par des études transversales dont les conclusions concernant une causalité possible de l'association sont fragiles.

Finalement, l'ensemble de ces résultats est en accord avec une présomption forte (++) d'un lien entre l'exposition prénatale aux organophosphorés et une altération des capacités motrices, cognitives et des fonctions sensorielles chez l'enfant.

Exposition des femmes enceintes et des enfants aux insecticides pyréthrinoïdes

Depuis l'expertise de 2013, la littérature scientifique s'intéressant aux insecticides pyréthrinoïdes et à leur neurotoxicité développementale, est grandissante. Ces molécules sont très présentes dans les produits, matériaux et biens de consommation à usage agricole et domestique pour lutter contre les insectes et parasites ; dans les pays occidentaux, la perméthrine est la molécule pyréthrinoïde la plus communément retrouvée dans les environnements intérieurs (poussières).

L'une des premières études évaluant cette question est la cohorte new-yorkaise conduite par l'Université Columbia dans un contexte d'usage domestique fréquent de produits pour lutter contre les parasites des logements de milieux défavorisés. L'étude proposait de mesurer la perméthrine et la molécule synergique des pyréthrinoïdes, le butoxyde de pipéronyle (PBO), dans le sang maternel, de cordon et dans l'air (48 h) des logements occupés pendant la grossesse. Le PBO est utilisé dans les formulations des insecticides pyréthrinoïdes, mais pas dans celles des insecticides organophosphorés ou carbamates, ce qui en fait un indicateur de l'utilisation des insecticides pyréthrinoïdes. Seul le PBO apparaissait suffisamment détecté dans l'air des logements (> 75 %) pour pouvoir être étudié en association avec les performances neurodéveloppementales des enfants évaluées à 36 mois par le BSID-II. Ce résultat s'explique par la très courte demi-vie de ces composés dans l'organisme (< 24 h) et la faible volatilité de la perméthrine. L'étude rapportait une diminution des performances cognitives globales à 3 ans par le *Mental Developmental Index* du BSID-II en lien avec les niveaux de PBO mesurés dans l'air pendant la grossesse (Horton et coll., 2011). Les auteurs évoquaient plusieurs hypothèses explicatives : une inhibition de l'activité enzymatique des cytochromes P450 par le PBO retardant la détoxication des molécules actives pyréthrinoïdes présentes simultanément ou d'autres molécules neurotoxiques, donc amplifiant leurs effets toxiques possibles ; des troubles olfactifs et moteurs en lien avec le PBO suggérés par une étude chez

l'animal (Tanaka, 2003), ou la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de stress oxydatif par le PBO (Muguruma et coll., 2007).

L'autre cohorte new-yorkaise de l'hôpital Mount Sinaï (CEHS) a apporté également quelques indices suggérant une augmentation de troubles du comportement de l'enfant entre 4 et 9 ans en lien avec l'exposition prénatale aux pyréthrinoïdes (Furlong et coll., 2017b). Il s'agissait du comportement évalué par l'échelle du *Behavior Assessment System for Children* (BASC) de type externalisé (par exemple agressivité et hyperactivité ; β = - 4,74 ; IC 95 % [- 9,37 ; - 0,10]) en lien avec le métabolite *cis*-DCCA (métabolite de la perméthrine, cyperméthrine, et la cyfluthrine), et de type internalisé (par exemple anxiété ; β = - 4,50 ; IC 95 % [- 8,05 ; - 0,95]) en lien avec le 3-PBA, un métabolite commun à de nombreux insecticides pyréthrinoïdes. L'exposition mesurée par la concentration de trois métabolites de molécules pyréthrinoïdes dans les urines maternelles collectées pendant la grossesse était considérée de façon binaire (détecté *versus* non détecté) limitant la portée de ces résultats.

La cohorte de Central Ohio observait une diminution des performances cognitives globales à l'âge de 3 mois en association avec les niveaux urinaires de métabolites de pyréthrinoïdes (3-PBA et *trans*-DCCA, métabolites de la perméthrine, cyperméthrine, et la cyfluthrine) mesurés pendant le 3e trimestre de grossesse, en tenant compte des concentrations de ces mêmes métabolites mesurées dans les urines des enfants de 3 mois (pas d'association observée avec ces mesures urinaires à 3 mois). Aucune association n'était observée avec le développement psychomoteur (Fluegge et coll., 2016).

À partir de la mesure de 5 métabolites distincts de molécules pyréthrinoïdes dans les urines maternelles recueillies en début de grossesse et de l'évaluation de deux domaines cognitifs des enfants à l'âge de 6 ans, la cohorte française PELAGIE n'a pas rapporté d'altération des performances cognitives des enfants de 6 ans en lien avec l'exposition prénatale aux pyréthrinoïdes, excepté pour la mémoire de travail et le *trans*-DCCA (p de tendance = 0,18 ; β (86-209 ng/l *versus* < 86 ng/l) = - 4,86 ; IC 95 % [- 10,48 ; 0,76], β (> 209 ng/l *versus* < 86 ng/l) = - 6,44 ; IC 95 % [- 11,92 ; - 0,97]) (Viel et coll., 2015). En revanche, avec un schéma d'étude transversale, cette cohorte observait une diminution des scores de compréhension verbale et de mémoire de travail des enfants à 6 ans en association avec les concentrations urinaires en 3-PBA (p de tendance = 0,04 et 0,05, respectivement), et en *cis*-DBCA, métabolite spécifique de la deltaméthrine (p de tendance < 0,01 et < 0,01, respectivement) mesurées dans les urines des enfants le matin du jour de l'évaluation neuropsychologique (Viel et coll., 2015). L'ensemble des modèles statistiques tenait compte simultanément des concentrations

urinaires de DAP prénatales et de celles mesurées à 6 ans. Un risque augmenté de troubles élevés de comportement internalisé évalué à l'âge de 6 ans par l'échelle du *Strength and Difficulties Questionnaire* (échelle auto-rapportée par la mère sur le comportement des six derniers mois de l'enfant), était associé aux concentrations urinaires prénatales de *cis*-DCCA (p de tendance = 0,05 ; β (67-137 ng/l *versus* < 67 ng/l) = 1,47 ; IC 95 % [0,50-4,28], β (> 137 ng/l *versus* < 67 ng/l) = 2,33 ; IC 95 % [0,76-7,17]) ; aucune association n'était observée avec le comportement externalisé (Viel et coll., 2017). Avec les concentrations urinaires mesurées chez l'enfant, une augmentation des troubles externalisés rapportés à 6 ans était observée avec le 3-PBA et une diminution avec le *trans*-DCCA, sans explication évidente.

La cohorte *Odense Child Cohort* (OCC) conduite au Danemark a également mesuré ces mêmes 5 métabolites de molécules pyréthrinoïdes dans les urines maternelles recueillies en fin de 2e trimestre de grossesse (Dalsager et coll., 2019). Avec un effectif plus important (n = 948) que la cohorte PELAGIE, elle observait une augmentation des troubles de déficit d'attention et d'hyperactivité chez l'enfant à 2,5 ans en lien avec les concentrations urinaires maternelles de 3-PBA, traduite par une augmentation de 3 % du score de TDAH à chaque doublement du niveau urinaire (1,03 ; IC 95 % [1,00 ; 1,07]). Une association était également observée entre la présence du *trans*-DCCA dans les urines maternelles et un score de TDAH de l'enfant parmi les 10 % les plus élevés (OR = 1,76 ; IC 95 % [1,08 ; 2,86]). Malgré la possibilité d'évaluer les troubles internalisés avec l'échelle CBCL (*Childhood Behavior CheckList*) utilisée dans cette cohorte, ces associations n'ont pas été rapportées.

La cohorte mexicaine ELEMENT observait une diminution des performances cognitives globales à 24 mois, mais pas à 36 mois, en lien avec les niveaux urinaires de 3-PBA mesurés pendant la grossesse (Watkins et coll., 2016). Aucune association n'était observée pour le développement psychomoteur.

Une cohorte mères-enfants plus récente, VHEMBE (*Venda Health Examination of Mothers, Babies and the Environment*), conduite dans la province de Limpopo en Afrique du Sud a inclus 752 femmes entre 2012 et 2013. Un prélèvement urinaire, dans lequel étaient mesurés 5 métabolites d'insecticides pyréthrinoïdes, était recueilli juste avant l'accouchement pour la majorité d'entre elles (62 %), ou après la naissance et avant de quitter l'hôpital pour les autres. Pour chaque augmentation d'un facteur dix, des concentrations maternelles urinaires (en µg/l, ajusté sur la gravité spécifique, échelle $\log_{10}$), de *cis*-DCCA, *trans*-DCCA et 3-PBA, étaient associées à une diminution du score de développement socio-émotionnel de l'enfant à 1 an de l'échelle BSID (respectivement, β = - 0,63 ; IC 95 % [- 1,14 ; - 0,12],

β = - 0,48 ; IC 95 % [- 0,92 ; 0,05] et β = - 0,58 ; IC 95 % [- 1,11 ; - 0,06]). La concentration en *cis*-DBCA, métabolite spécifique de la deltaméthrine, était également associée à une diminution du score BSID de développement du langage à l'âge de 2 ans (β = - 1,74 ; IC 95 % [-3,34 ; -0,13]), résultat porté principalement par la sous-échelle de communication expressive (Eskenazi et coll., 2018). Ces résultats tenaient compte de la présence ou non de symptômes dépressifs maternels. En restreignant les analyses aux femmes ayant eu une collecte d'urine avant l'accouchement seulement, dont la mesure a plus de chance de refléter l'exposition de l'environnement et du domicile occupé pendant la grossesse, les auteurs ont rapporté des niveaux urinaires plus élevés mais des résultats d'association similaires.

Une cohorte mères-enfants japonaise (n = 102) a rapporté un meilleur développement de l'enfant à 18 mois en lien avec les concentrations urinaires de 3-PBA mesurées au 1er trimestre de grossesse (Hisada et coll., 2017).

Enfin, trois études transversales s'appuyant sur des suivis nationaux de surveillance de la santé et des expositions de la population générale ont observé : *i*) parmi 779 enfants canadiens de 6-11 ans, une augmentation des troubles comportementaux en lien avec leurs concentrations urinaires de *cis*-DCCA (aucune association avec le 3-PBA) (Oulhote et Bouchard, 2013), *ii*) parmi 1 660 enfants états-uniens de 6-15 ans, aucune association avec les troubles de comportement externalisés (Quiros-Alcala et coll., 2014), et *iii*) parmi 687 enfants états-uniens de 8-15 ans une augmentation du risque de déficit attentionnel avec/sans hyperactivité, plus prononcée chez les garçons, en lien avec les concentrations urinaires de 3-PBA (Wagner-Schuman et coll., 2015).

En résumé, la littérature épidémiologique s'intéressant au rôle des insecticides pyréthrinoïdes sur la santé neurodéveloppementale est récente et fait suite à l'augmentation de leurs usages en substitution aux insecticides organophosphorés. Il s'agit pour l'essentiel des mêmes cohortes, de bonne qualité pour la plupart, ayant pu s'intéresser aux insecticides organophosphorés.

Une concordance de résultats entre les études, quel que soit le contexte, est observée et suggère une augmentation des troubles du comportement de l'enfant, notamment de type internalisé (par exemple anxiété), en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides pyréthrinoïdes (présomption forte ++). En revanche, les études actuelles s'intéressant à son rôle possible sur les capacités cognitives des enfants rapportent des résultats variables et ne permettent pas de conclure.

Un rôle de l'exposition aux insecticides pyréthrinoïdes pendant l'enfance sur le développement neuropsychologique et le comportement de l'enfant a été

rapporté par des schémas d'études transversales pour lesquelles les conclusions concernant une causalité possible de l'association sont limitées sans pouvoir toutefois exclure la possibilité d'un effet neurotoxique à court terme et réversible.

Exposition des femmes enceintes et des enfants aux pesticides liée à la proximité résidentielle aux activités agricoles et aux usages de produits domestiques

À partir de quatre études (dont trois de petite taille), l'expertise collective Inserm réalisée en 2013 ne concluait à aucune preuve d'un lien entre l'exposition à des pesticides par la proximité résidentielle aux zones agricoles ou par les usages domestiques et des atteintes neurodéveloppementales chez l'enfant. Depuis, huit publications scientifiques, dont 5 concernent des études réalisées dans la région californienne, ont apporté de nouveaux résultats.

La cohorte mères-enfants INMA conduite en Espagne entre 2003 et 2008 a inclus 2 644 femmes enceintes en début de grossesse et a pu suivre et évaluer le développement neuropsychologique de 2 360 enfants vers l'âge de 14 mois avec le *Bayley Scales of Infant Development* (BSID-I). Des interviews des mères avec un questionnaire standardisé étaient organisées pendant la grossesse et pendant l'enfance. Deux tiers des femmes de la cohorte avaient un niveau d'études inférieur au bac, et presque un quart un niveau d'études inférieur au secondaire. Un total de 54 % des foyers avaient déclaré un usage de produits à domicile pour lutter contre les insectes pendant la grossesse ; 34 % utilisaient des sprays et 33 % des diffuseurs passifs. L'usage de sprays à domicile pour lutter contre les insectes pendant la grossesse était associé à des scores diminués du développement moteur de l'enfant à 14 mois (β = - 1,9 ; IC 95 % [- 3,4 ; - 0,5]). Aucune association n'était observée pour le développement cognitif ou pour les autres usages, y compris ceux pendant l'enfance (Llop et coll., 2013). Les auteurs notent que les principaux insecticides contenus dans les produits sprays étaient ceux de la famille des pyréthrinoïdes.

L'étude cas-témoins CHARGE (*Childhood Autism Risks from Genetics and the Environment*) conduite en population générale en Californie entre 2000 et 2007 a inclus 466 enfants âgés de 2-5 ans atteints et 340 non atteints de troubles du spectre autistique, selon une échelle quantitative et confirmé pour les cas par d'autres batteries de tests de développement. Une interview au moment du diagnostic était réalisée pour collecter de façon rétrospective les usages domestiques de produits pesticides pendant la grossesse. Une

association était observée entre les usages domestiques de pesticides pendant la grossesse (46 %), en particulier sous la forme de sprays et de diffuseurs, et le risque d'avoir un enfant atteint de troubles du spectre autistique. Cette association était diminuée lorsque les mères au moment de la conception avaient un apport en acide folique > 800 mg/j (Schmidt et coll., 2017). Les auteurs n'émettent aucune hypothèse sur les familles de pesticides possiblement incriminées dans cette association.

La Californie bénéficie depuis les années 1990 d'un système obligatoire répertoriant l'ensemble des usages professionnels de pesticides et rendant disponibles les données spatialisées (par mile carré) de dates et quantités pour chaque molécule active utilisée. Bénéficiant de ce système unique au monde, l'étude cas-témoins CHARGE après avoir collecté et géocodé l'ensemble des résidences des familles de cas et de témoins a observé que la proximité résidentielle (rayon inférieur à 1,5 km) à des zones traitées avec des insecticides organophosphorés ou avec des insecticides pyréthrinoïdes pendant la grossesse (en particulier le 3e trimestre) était associée à une augmentation du risque d'avoir un enfant atteint de troubles du spectre autistique (OR = 2,07 ; IC 95 % [1,23 ; 3,50] et OR = 1,87 ; IC 95 % [1,02 ; 3,43], respectivement) (Shelton et coll., 2014).

Une autre étude cas-témoins a été réalisée dans la vallée centrale de Californie avec l'activité agricole la plus importante de la région et sur une période d'étude plus étendue, de 1998 à 2010 (von Ehrenstein et coll., 2019). Les données des 2 961 cas et 35 370 témoins, incluant l'adresse au moment de la naissance, ont été collectées à partir du registre de santé californien et de certificats de naissance. L'étude a montré un risque augmenté de survenue de troubles du spectre autistique chez les enfants en lien avec une exposition prénatale ou dans la première année de vie à 7 des 11 pesticides d'intérêt appliqués sur des zones agricoles à moins de 2 000 m de la résidence. Il s'agit de la perméthrine, du diazinon, du glyphosate, et de l'avermectine, et à la limite de la significativité statistique, de la bifenthrine, du malathion et du chlorpyrifos. Ces résultats tiennent compte des usages possiblement corrélés de ces pesticides entre eux, de facteurs sociodémographiques et de la pollution liée au trafic routier.

La cohorte mères-enfants californienne CHAMACOS a rapporté des diminutions de points de QI global chez les enfants de 7 ans (Rowe et coll., 2016) et 10,5 ans (Gunier et coll., 2017) en association avec, respectivement, *i*) des applications agricoles d'insecticides organophosphorés et carbamates à proximité de la résidence (rayon inférieur à 1 km) pendant la grossesse en tenant compte des niveaux socio-économiques individuels et contextuels (pas d'existence d'interaction), et *ii*) des applications agricoles d'insecticides

organophosphorés, carbamates, néonicotinoïdes, pyréthrinoïdes et de fongicides-manganèse à proximité de la résidence (rayon inférieur à 1 km) pendant la grossesse en tenant compte des concentrations prénatales de DAP urinaires. En revanche, aucune association n'a été observée entre la quantité d'insecticides organophosphorés utilisés à proximité de la résidence prénatale (rayon inférieur à 1 km) et les capacités sociales des enfants de la cohorte CHAMACOS évalués entre 7 et 14 ans (Sagiv et coll., 2018). Il faut noter que contrairement aux familles de l'étude CHARGE (30 % habitaient à proximité de zones agricoles traitées), toutes les familles de la cohorte CHAMACOS résidaient à moins d'1 km des zones traitées.

Enfin deux autres études observant les performances cognitives d'enfants entre 4 et 11 ans, sur deux périodes, avec puis sans risque d'usage ou d'exposition aux pesticides, ont observé une amélioration dans le temps des performances de certains domaines cognitifs. Elles suggèrent ainsi un impact possible des expositions résidentielles pendant l'enfance et potentiellement réversible (Gonzalez-Alzaga et coll., 2015 ; Suarez-Lopez et coll., 2017).

En résumé, l'exposition aux pesticides par les applications agricoles à proximité des lieux de vie est particulièrement difficile à évaluer. Dans le contexte californien, qui possède un système unique rendant disponibles les déclarations obligatoires des usages de pesticides, plusieurs études ont rapporté des déficits intellectuels et une augmentation du risque de comportement évocateur des troubles du spectre autistique chez les enfants en lien avec la proximité résidentielle (rayon inférieur à 1,5 km) à des insecticides pendant la grossesse. En particulier, ont été incriminées les familles organophosphorées, carbamates et pyréthrinoïdes, en cohérence avec les études utilisant des biomarqueurs d'exposition.

Deux études ont rapporté des atteintes neurodéveloppementales possibles en lien avec l'usage pendant la grossesse de produits domestiques pour lutter contre des insectes ou autres nuisibles, sans toutefois pouvoir exclure l'influence de facteurs de confusion non identifiés. Malgré la bonne qualité de ces études, le niveau de preuve apporté reste faible tant que l'exposition aux pesticides via les usages domestiques ne sera pas mieux objectivée et caractérisée.

Pyréthrinoïdes et neurotoxicité développementale : approche mécanistique

Les pyréthrinoïdes sont des insecticides dérivés des pyréthrines naturelles extraites des chrysanthèmes, notamment *Chrysanthemum cinerariaefolium*. Ils

ont historiquement remplacé les organochlorés et plus récemment les organophosphorés. Bien que moins persistants, leur demi-vie est très variable dans l'environnement avec une bioaccumulation potentielle dans les organismes aquatiques du fait de leur lipophilie (ATDSR, 2003). Ils sont ainsi abondamment utilisés partout dans le monde en agriculture, pour la protection du bois ou via les pratiques ménagères (dont celles des hôpitaux) ; ainsi, ils sont retrouvés dans 88,5 % des habitations. Ils sont aussi beaucoup utilisés comme antipuces en pratique vétérinaire (Bouvier et coll., 2005). En milieu intérieur, ils sont protégés des UV, des variations de température et persistent plus longtemps notamment dans les poussières des habitacles (Leng et coll., 2005).

Toxicocinétique et métabolisme

Les molécules originelles de pyréthrinoïdes sont particulièrement lipophiles (leur métabolisme conduisant à un gain de solubilité majeur et à leur élimination dans les urines, les fèces) ; ainsi la perméthrine après absorption, est rapidement distribuée vers les organes riches en lipides comme le tissu adipeux et le cerveau et une partie (avant métabolisation par les cytochromes P450 ou les carboxylestérases) peut donc s'y accumuler. Pour les expériences présentées dans la suite de ce document, il est important de préciser que l'élimination chez l'être humain de certains pyréthrinoïdes est beaucoup plus lente que chez les rongeurs (jusqu'à 10 fois plus lente) (Scollon et coll., 2009). Les doses conduisant à une mortalité de 50 % chez les rongeurs (également connues sous le nom de dose létale 50 ou DL_{50}) sont très élevées et dépendent de la voie d'administration (400 mg/kg chez le rat, 650 mg/kg chez la souris pour la perméthrine par voie orale) (Personne, 2019).

Dans le cadre de ce chapitre consacré aux effets neurodéveloppementaux, l'exposition humaine est donc particulièrement importante à analyser même de façon indirecte, et des expériences de modélisation pour comprendre les relations entre les concentrations sanguines et cérébrales (le cerveau étant le site principalement suspecté comme étant sensible à l'action des pyréthrinoïdes) sont donc nécessaires. Une étude utilisant des rats Long-Evans mâles, et un mélange représentatif de pyréthrinoïdes (avec 7 doses différentes), montre que la cyperméthrine et la *cis*-perméthrine sont les plus facilement retrouvées dans le sang et le cerveau et surtout qu'il existe une relation linéaire entre les deux compartiments. Pour la *cis*-perméthrine, par exemple, les ratios moyens cerveau/sang varient entre 0,2 et 5,2, selon la dose administrée (Hughes et coll., 2016a).

Les mêmes auteurs se sont aussi focalisés sur la bifenthrine pour réaliser une étude de distribution plus générale (plus grand nombre d'organes analysé) et montrent que ce pyréthrinoïde, après administration de 0,3 ou 3 mg/kg (par gavage), atteint un pic sanguin ou hépatique après seulement 1 à 2 h avant d'être rapidement éliminé de ces compartiments. En revanche, le pic est plus bas mais plus tardif pour le cerveau avec aussi une élimination plus lente (phénomène également observé avec le tissu adipeux) (Hughes et coll., 2016b). Ces caractéristiques de distribution sont retrouvées pour la cyfluthrine, dont l'élimination est plus lente, notamment au niveau cérébral (Rodriguez et coll., 2018).

Jusqu'à récemment, ces études de distribution utilisaient principalement des rongeurs adultes. Or, dans le cadre d'une analyse neurodéveloppementale, il est également important de comprendre ces phénomènes au cours de la période périnatale. Le Dr Stéphane Personne, avec l'équipe qui encadrait sa thèse (Pr Véronique Bach et Dr Florence Zeman) de l'unité PériTox (UMR-I 01), a récemment développé un modèle toxicocinétique pour étudier la redistribution de la perméthrine chez la rate gestante après exposition. Ses travaux analytiques confirment bien que la *cis*-perméthrine ou la *trans*-perméthrine présentent une concentration très stable dans certains organes (tissus adipeux, glandes mammaires, cerveau) à la fois après injection et après modélisation (Personne, 2019). Or, il a été montré chez des rats que l'immaturité de la barrière hémato-encéphalique (BHE) entraîne une plus grande perméabilité aux *cis-* et *trans*-perméthrines et peut ainsi contribuer à augmenter la susceptibilité aux insecticides chez les rats pré-sevrés (Mortuza et coll., 2019). De plus, l'immaturité du système de détoxification, avec une dégradation plus lente des composés parents (dont la molécule clé est la deltaméthrine ou par extension des *cis-* et *trans*-perméthrines), pouvait entraîner une toxicité plus importante, les métabolites étant moins toxiques que les molécules parentes (Anand et coll., 2006 ; Hedges et coll., 2019). Cette immaturité du système de détoxification pouvait expliquer certains déficits neurocomportementaux chez le rat (Anand et coll., 2006 ; Hedges et coll., 2019 ; Mortuza et coll., 2019).

Modes d'action

Les pyréthrinoïdes peuvent être classés selon deux nomenclatures, soit en fonction des signes d'intoxication, soit en fonction de leur nature chimique (figure 3.1, ceux possédant un radical cyano étant classés en type II). Chez les insectes (leur principale cible), les modes d'action principaux sont la liaison à des canaux sodiques voltage-dépendants qui, maintenus ouverts,

provoquent une hyperexcitabilité neuronale (Klaassen, 2002). Cette dépolarisation permanente est à l'origine d'une paralysie chez l'insecte (et à sa mort). Une des causes de la résistance de certains insectes aux pyréthrinoïdes est la mutation de ces canaux (Hirata, 2016).

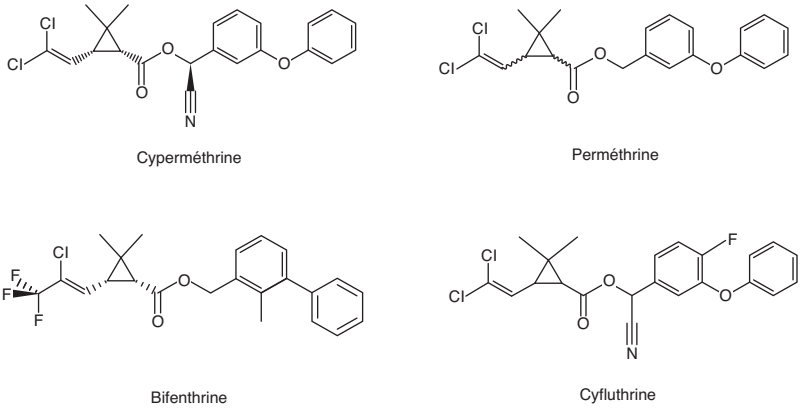


Figure 3.1 : Quelques exemples de pyréthrinoïdes (réutilisé sous Wikimédia Commons, CC-BY-3.0)

Les pyréthrinoïdes de synthèse de type II (comme l'α-cyperméthrine et la cyperméthrine) peuvent aussi inhiber certains récepteurs du GABA (acide γ-aminobutyrique) ainsi que des canaux chlore, renforçant cette hyperexcitabilité (Burr et Ray, 2004) et affecter la fonction de canaux calciques ou de la Ca^{2+}-ATPase (Clark et Symington, 2008).

Plus généralement, les pyréthrinoïdes sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens (Brander et coll., 2016) du fait de nombreux mécanismes d'action alternatifs qui seront présentés tant sur le plan cellulaire que moléculaire parfois en association avec des déficits neurocomportementaux.

Excitabilité neuronale

Compte tenu du mode d'action des pyréthrinoïdes chez les insectes, de nombreuses études se sont intéressées à l'effet de ces molécules sur l'électrophysiologie des neurones et à leurs effets sur différents canaux ioniques (canaux sodiques et canaux calciques).

Un grand nombre de pyréthrinoïdes (Type I : bifenthrine, perméthrine ; Type II : β-cyfluthrine, cyperméthrine, deltaméthrine, et λ-cyhalothrine) affectent les paramètres électrophysiologiques des cellules neuronales de rat à des concentrations qui s'échelonnent entre 1 et 100 μM (Baskar et Murthy,

2018). Les auteurs ont montré que tous les pyréthrinoïdes, aux plus faibles concentrations, provoquent une augmentation de la fréquence élevée des décharges (*mean burst rate*), ce qui peut être considéré comme un effet caractéristique des pyréthrinoïdes sur l'excitabilité neuronale.

L'esfenvalérate a été testé à différentes concentrations (5-40 µM) sur des coupes de cerveau de rat : la plus faible concentration conduit à la formation de profils électrophysiologiques épileptiques (surexcitabilité et fréquence élevée des décharges) tandis qu'une inhibition de l'excitabilité est observée à partir de 40 µM (Varro et coll., 2017). En présence de plusieurs types cellulaires (neurones, cellules gliales), la mesure de la fréquence des potentiels d'action montre qu'une inhibition est aussi observée pour des concentrations de différents pyréthrinoïdes (deltaméthrine, cyperméthrine, β-cyfluthrine et esfenvalérate) supérieures à 10 µM. Une augmentation de l'excitabilité est néanmoins observée avec la perméthrine montrant que les effets des pyréthrinoïdes peuvent être spécifiques de chaque molécule. En conséquence, peu d'effets sont observés avec un mélange des 5 composés (52 % perméthrine, 28,8 % cyperméthrine, 12,9 % β-cyfluthrine, 3,4 % deltaméthrine et 2,7 % esfenvalérate) du fait probablement de l'additivité des effets (la perméthrine ayant un effet contraire aux autres) (Johnstone et coll., 2017).

Ainsi, la deltaméthrine affecte différents canaux sodiques voltage-dépendants de mammifères (Hirata, 2016) selon plusieurs mécanismes : *i*) une liaison directe provoquant leur ouverture forcée, *ii*) une diminution de l'expression des ARNm codant deux de ces canaux (Magby et Richardson, 2015). Il est tentant de poser l'hypothèse que l'ouverture forcée des canaux par le deltaméthrine provoque une adaptation neuronale limitant cet effet chronique par la diminution d'expression de ces canaux (liée à celle de leur ARNm). En plus de la deltaméthrine, la bifenthrine exerce sur ces mêmes canaux sodiques, un effet d'ouverture prolongé conduisant également à une dépolarisation (obtenue avec des doses de 10 µM) (Yang et Li, 2015).

Toutefois, assez rapidement, d'autres ions comme le Ca^{2+} (ion calcium) ont été suspectés de jouer un rôle dans le mode d'action des pyréthrinoïdes, suite à l'utilisation de chélateurs calciques bloquant l'effet des pyréthrinoïdes (Magby et Richardson, 2015), parfois sur d'autres types cellulaires que les neurones. Une étude récente de 2018, montre que 4 pyréthrinoïdes (perméthrine, cyperméthrine, α-cyperméthrine, bioalléthrine) modifient le fonctionnement de canaux calciques intracellulaires (libération de calcium par la fraction microsomiale) probablement par liaison de haute affinité à la pompe calcique ATPase SERCA (*Sarco/endoplasmic reticulum* Ca^{2+} *ATPase*) comme le montre la co-utilisation d'un inhibiteur de cette protéine

(thapsigargine) (Dusza et coll., 2018). L'utilisation de λ-cyhalothrine, mélange d'isomères du pyréthrinoïde cyhalothrine, sur des astrocytes humains (*Gibco Human Astrocytes*) montre qu'à des concentrations de 10-15 µM, une cytotoxicité est observée, associée à une élévation des $[Ca^{2+}]i$ (concentrations de Ca^{2+} intracellulaires) probablement liée à l'ouverture de canaux calciques membranaires (Hsu et coll., 2018). Les auteurs relient ce phénomène à une apoptose astrocytaire (comme le montre l'effet bloquant de chélateurs). Les effets décrits apparaissent toutefois plus complexes que ceux observés avec les canaux sodiques. En effet, l'α-cyperméthrine et la cyperméthrine inhibent des canaux calciques voltage-dépendants à des concentrations relativement basses (concentration inhibitrice de 50 % de l'activité des canaux ou IC_{50} respectivement de 239 et 78 nM en 20 minutes soit inférieures à 1 µM) avec pour conséquence un blocage de la dépolarisation (Meijer et coll., 2014). Ces concentrations sont plus faibles que celles précédemment décrites pour d'autres modes d'action notamment pour la cyperméthrine. L'utilisation de neurones corticaux murins pour mesurer la perturbation des potentiels d'action en réponse à une exposition à la deltaméthrine à seulement 30 nM, montre que l'α-cyperméthrine et la cyperméthrine sont susceptibles d'exercer leurs effets via la liaison aux récepteurs de la ryanodine (RyR) en augmentant globalement leur probabilité d'ouverture et le passage des ions Ca^{2+}. Les RyR interviennent dans le passage de l'ion Ca^{2+} des stocks du réticulum endoplasmique vers le cytoplasme. Ils jouent un rôle particulièrement important au niveau neuronal. De par leur ouverture, la deltaméthrine pourrait provoquer une augmentation de la $[Ca^{2+}]i$. Ce phénomène est associé à une stimulation de la croissance axonale (là encore à des concentrations faibles de 10-300 nM) et à une complexification de l'arborescence dendritique (100 nM) (Zheng et coll., 2019). Au niveau neuronal, de faibles modifications des $[Ca^{2+}]i$ peuvent provoquer des symptômes marqués (Toescu et Verkhratsky, 2007).

En résumé, les pyréthrinoïdes agissent sur les cellules neuronales, en altérant certains paramètres électrophysiologiques des cellules neuronales (surexcitabilité, inhibition de l'excitabilité, ouverture des canaux sodiques voltage-dépendants) selon les concentrations et les molécules utilisées. L'action de certains pyréthrinoïdes, en altérant la $[Ca^{2+}]i$ peut induire des modifications sur les cellules neuronales (croissance axonale) ou des effets cytotoxiques sur les astrocytes (apoptose astrocytaire). Cette altération de la concentration de Ca^{2+} peut également indiquer que les pyréthrinoïdes pourraient être associés à une modification de la fonction mitochondriale.

Mitochondrie et stress oxydant

Comme nous l'avons vu précédemment, au sein du système nerveux central, d'autres types cellulaires que les neurones peuvent être affectés par les pesticides. Certains auteurs décrivent ainsi des perturbations de la fonction des astrocytes et de la BHE. Les astrocytes jouant un rôle fondamental dans l'homéostasie de cette barrière.

Des astrocytes de rat en culture traités pour 48 h avec de la cyperméthrine (> 50 µM) présentent une viabilité réduite (Maurya et coll., 2014). Néanmoins, dans cette étude la viabilité cellulaire était analysée uniquement avec le *Microculture Tetrazolium Test* (MTT) mesurant l'activité de déshydrogénases mitochondriales et donc susceptible de révéler une atteinte de la fonction de ces organites et pas nécessairement de la viabilité cellulaire. Le traitement était aussi associé à une altération de la morphologie révélée par microscopie et marquage pour *Glial Fibrillary Acidic Protein*, un filament intermédiaire de l'astrocyte. Ce phénomène observé à très hautes doses entraîne aussi une altération de $[Ca^{2+}]i$ mais également une augmentation de la production d'ERO, des niveaux de phosphorylation de deux kinases de stress, p38 et JNK (effet rapide entre 10 min et 1 h, 100 µM) et de plusieurs protéines susceptibles d'intervenir dans la fonction migratoire des astrocytes comme la métalloproteinase matricielle 2, Disabled-1, la reeline (une protéine jouant un rôle clé dans les couches granulaires externe et interne du cervelet) et l'$\alpha_3\beta_1$-intégrine. Ces résultats obtenus *in vitro* sont corroborés *in vivo* sur des rats en cours de développement chez lesquels une altération de la fonction de la BHE est observée (traitement journalier pendant 3 semaines de 10 mg/kg).

Cette action des pyréthrinoïdes sur la mitochondrie conduisant à un éventuel stress oxydant est corroborée par d'autres études. Une étude périnatale menée sur des souris exposées à la cyperméthrine (5-20 mg/kg, de la gestation au 15e jour suivant la naissance) montre que les déficits moteurs sont les premiers à se manifester suivis de défauts d'adaptation plus tard dans la vie des souriceaux (Laugeray et coll., 2017). Parallèlement, des analyses transcriptomiques ont permis de révéler que les principaux processus cellulaires affectés sont la fonction mitochondriale et l'homéostasie protéique. Ces dérégulations sont compatibles avec un rôle potentiel pro-oxydant des pyréthrinoïdes. En effet, une production excessive d'ERO peut affecter le fonctionnement de la chaîne respiratoire et la structure des protéines. Ce ciblage de la mitochondrie est aussi évoqué par Gasmi et coll. dans une étude intéressante car réalisée à faible dose d'exposition à la deltaméthrine (0,32 mg/kg/j) sur des rats Wistar ; celle-ci montre en effet une diminution des défenses anti-oxydantes mitochondriales, associée à une augmentation de biomarqueurs pro-oxydants

comme le malondialdéhyde dans l'hippocampe et le striatum (Gasmi et coll., 2017). Sur le plan métabolique, la dysfonction mitochondriale est associée à une diminution de la consommation de dioxygène (O_2) et de la libération de cytochrome C (une molécule dont l'action est pro-apoptotique, associée à l'augmentation d'activité de la caspase 3). Sur le plan comportemental, le traitement, pourtant à une dose relativement basse, conduit à une altération des capacités d'apprentissage et de mémorisation ainsi qu'un niveau d'anxiété plus élevé. Ces effets pro-apoptotiques de la deltaméthrine sont aussi observés à des doses d'exposition plus fortes comme par exemple sur des cellules neuronales corticales de rat (12,5 mg/kg, dose unique) (Khalatbary et coll., 2015).

Ces effets pro-oxydatifs des pyréthrinoïdes sont aussi communément décrits sur des modèles cellulaires, généralement à des doses supérieures à 25 µM pour des temps de traitement de plus de 24 h (Maurya et coll., 2014 ; Sooresh et coll., 2015). Par exemple, la bifenthrine (1-20 µM, 4-24 h) provoque sur des cellules microgliales primaires de rats Sprague-Dawley, une augmentation de la production d'ERO associée à des niveaux élevés de prostaglandine E2 (liée à une augmentation de l'expression de la cyclooxygénase 2), de TNF-α (*Tumor Necrosis Factor*-α), de la peroxydation lipidique et d'oxydation protéique, tout en diminuant les défenses anti-oxydantes (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase). Il en résulte une activation de l'expression de marqueurs de défense anti-oxydante (Nrf2, facteur de transcription régulant l'expression de « défenses » anti-oxydantes) ou de facteurs pro-inflammatoires (NF-κB, facteur de transcription activé par des cytokines pro-inflammatoires). À des doses équivalentes, une augmentation des caractéristiques de mort cellulaire est aussi observée sur des cultures organotypiques d'hippocampe et cet effet est amplifié par l'élimination des astrocytes de ce type de culture, suggérant que les astrocytes constituent un rempart de défense efficace contre les pesticides pour les neurones (Gargouri et coll., 2018a).

L'effet pro-oxydatif de l'α-cyperméthrine a été analysé sur la lignée de neuroblastome humain, SH-SY5Y. L'IC_{50} est comprise entre 70 et 80 µM en fonction du test utilisé pour estimer la cytotoxicité. Un traitement des cellules avec des doses croissantes entre 1 et 100 µM entraîne donc l'activation de la mort cellulaire sous-tendue par l'augmentation d'expression de gènes de l'apoptose, de la nécrose et de l'autophagie (Romero et coll., 2017a).

Ces effets sont aussi observés *in vivo* ; ainsi, l'exposition de rates durant la gestation et jusqu'au sevrage à des doses assez élevées de pyréthrinoïdes (bifenthrine, 3,6 mg/kg et β-cyfluthrine, 43 mg/kg) conduit à des défauts comportementaux généraux chez la descendance, ainsi que pour les descendants spécifiquement exposés à la β-cyfluthrine, à une élévation du taux de

mortalité et une diminution du gain de poids. Ceci se traduit au niveau moléculaire par des réductions d'activités enzymatiques anti-oxydantes et par conséquent par un stress oxydant dans le striatum, le cervelet et l'hippocampe (Syed et coll., 2016). Cet effet est aussi observé en cas d'administration de la bifenthrine à des rats Wistar adultes (3,5 ou 7 mg/kg quotidiennement pendant 30 jours) ou à des souris femelles Swiss ayant reçu de la β-cyfluthrine, associé dans certains cas à une diminution du niveau de certains neurotransmetteurs (dopamine, sérotonine, voir plus loin également) (Syed et coll., 2018 ; Rajawat et coll., 2019). Ces effets sont néanmoins confirmés avec des doses plus faibles (0,6 et 2,1 mg/kg de bifenthrine, chroniques car administrées quotidiennement) conduisant à des syndromes d'anxiété ou de dépression ainsi qu'à une élévation des marqueurs métaboliques et géniques de stress oxydant (COX2, NF-κB, TNF-α, ERO) ; l'expression de l'acétylcholinestérase (AChE) est diminuée ainsi que celle de la choline acétyltransférase et de certains récepteurs muscariniques de l'acétylcholine dans le cortex frontal et le striatum (Syed et coll., 2016 ; Gargouri et coll., 2018b ; Gargouri et coll., 2019). Concernant la modulation d'expression de l'AChE, l'utilisation d'embryons de poissons zèbres montre que la cyperméthrine pourrait aussi moduler l'activité de cette enzyme (Stengel et coll., 2018). Sur le même modèle, la deltaméthrine (avec des doses très faibles, 0,01 µg/l, 24 h après fertilisation) retarde le développement des embryons impactant l'expression de gènes impliqués dans ce processus comme *ntl*, *shh* et *krox20*. À partir de doses supérieures à 0,1 µg/l, une hyperactivité est observée. Au-delà de 10 µg/l, des malformations apparaissent (Liu et coll., 2018).

L'importance de cet effet oxydatif des pyréthrinoïdes est démontrée par l'utilisation d'antioxydants (quercétine, *Artemisia campestris*, fruit du lotus Zizyphus, *Crataegus oxyacantha*) pour contrer par exemple l'action de la deltaméthrine ou de la cyperméthrine (Gasmi et coll., 2017 ; Abdelhafidh et coll., 2018 ; Saoudi et coll., 2019).

La démonstration d'un rôle potentiel de l'AChE dans les effets des pyréthrinoïdes soulève également l'hypothèse d'une implication d'autres neurotransmetteurs comme la dopamine ou la sérotonine.

Modulation des niveaux de plusieurs neurotransmetteurs

Une étude computationnelle réalisée avec la base de données ToxCast identifie des cibles originales pour les pyréthrinoïdes dont les récepteurs nucléaires RAR (α, β, γ) ou le transporteur dopaminergique SLC63 (identifiées en lien avec plusieurs pyréthrinoïdes). D'autres cibles potentielles sont citées comme

le récepteur du GABA-α1 (GABRA1) ou les récepteurs muscariniques cholinergiques CHMR1 et CHMR3 (Chushak et coll., 2018).

- ***Dopamine***

La dopamine est un neurotransmetteur de type catécholamine dérivé du métabolisme des acides aminés aromatiques (comme la tyrosine ou la phénylalanine), qui provoque une sensation de plaisir du fait de son implication dans les systèmes comportementaux de la récompense. Elle influence donc la motivation et la prise de risques et donc, en cas d'excès, favorise les conduites à risque. Elle est produite dans plusieurs régions du cerveau dont la substance noire, dont la dégénérescence conduit à la maladie de Parkinson.

Sur le plan expérimental, l'action des pyréthrinoïdes sur le système dopaminergique et plus généralement la synapse a été récemment démontrée. Richardson et coll. ont administré de la deltaméthrine par voie orale à des souris femelles de la souche C57BL/6J tous les 3 jours pendant la gestation (Richardson et coll., 2015). Les doses utilisées (0,3, 1 et 3 mg/kg) ont été basées sur une modélisation des niveaux d'exposition aux pyréthrinoïdes chez des femmes enceintes. L'exposition pendant la période prénatale a conduit à une augmentation dose-dépendante des niveaux d'expression du transporteur de la dopamine (DAT) dans le striatum qui était deux fois plus importante chez les mâles que chez les femelles. Cet effet, qui n'était pas observé pour d'autres transporteurs, a pour conséquence une hypersensibilité à d'autres neurotoxiques (comme le MPTP, un agent qui cause des symptômes parkinsoniens). Logiquement, une baisse de la concentration synaptique de dopamine, probablement capturée par le DAT, spécifiquement chez les mâles, associée à une hyperactivité et des déficits de mémoire et d'attention, est observée. Cette étude très complète réalisée selon un protocole pertinent sur le plan environnemental, se conclut par une analyse épidémiologique complémentaire montrant une association entre métabolites urinaires des pyréthrinoïdes et syndromes de type autistique ou de déficit de l'attention, corroborant l'étude mécanistique. La recapture probable de dopamine médiée par le DAT est aussi démontrée dans d'autres études, toujours au niveau du striatum selon un protocole assez similaire (Bloomquist et coll., 2002). D'autres pyréthrinoïdes ont été étudiés dans ce contexte (Elwan et coll., 2006). Chez des souris C57BL/6 qui sont exposées selon une large gamme de concentrations (0,1-200 mg/kg, 1 fois par semaine, pendant 3 semaines) à la perméthrine, on observe, comme pour la deltaméthrine, une augmentation de l'expression du DAT pour la faible dose de 0,8 mg/kg. Point important dans cette dernière étude, malgré l'arrêt de l'exposition (28 jours, temps maximal étudié), cette augmentation persiste dans le temps (Gillette et Bloomquist, 2003).

L'augmentation du DAT est confirmée à l'aide d'autres protocoles et d'autres pyréthrinoïdes. Des rats adultes Sprague-Dawley exposés quotidiennement pendant 60 jours à une dose assez élevée de fenpropathrine (15 mg/kg) présentent des diminutions de l'expression de la tyrosine hydroxylase (TH, enzyme de la voie de synthèse de la dopamine), d'un des transporteurs de la dopamine VMAT2 mais aussi, de manière cohérente avec les autres études, une augmentation de celle du DAT. Comme pour l'étude de Gillette et Bloomquist, si l'exposition est arrêtée, les effets sur la TH s'accentuent après 60 jours (Xiong et coll., 2016). Par ailleurs, la cyfluthrine en exposition orale sur des rats mâles (1-20 mg/kg/j pendant 6 j) provoque une diminution des niveaux de dopamine et de ses métabolites (> 5 mg/kg) et au-delà de 20 mg/kg, une augmentation du renouvellement du neurotransmetteur, au niveau du striatum et du cortex préfrontal (Rodriguez et coll., 2016). Dans cette étude, une modulation des niveaux de la sérotonine (striatum), est aussi constatée.

- ***Sérotonine***

La sérotonine est un neurotransmetteur impliqué dans la régulation de nombreux comportements et fonctions physiologiques fondamentaux comme la dépression, le sommeil, les comportements agressifs ou sexuels... Ainsi, une baisse de la concentration de la sérotonine a été décrite dans la dépression ; cette baisse peut également entraîner une augmentation des comportements agressifs et de l'activité locomotrice alors qu'une augmentation peut favoriser un comportement d'opposition (Lucki, 1998). Le système sérotoninergique est une cible majeure dans les traitements pharmacologiques de la dépression.

L'homéostasie de la sérotonine peut être sensible aux effets neurotoxiques des pyréthrinoïdes. En effet, elle peut être perturbée par un panel de pyréthrinoïdes (alléthrine, cyhalothrine, deltaméthrine) au niveau striatal chez le rat selon des profils parfois très différents (Hossain et coll., 2013). Or, les liens entre systèmes dopaminergique et sérotoninergique sont importants comme l'illustre la forte innervation du striatum par des neurones à sérotonine (Sourkes et Poirier, 1965). Ainsi l'alléthrine (10 mg/kg) réduit les niveaux extracellulaires de sérotonine (46 %) tandis que des doses plus élevées (20 et 60 mg/kg) l'augmente franchement (respectivement 177 % et 243 %). La cyhalothrine l'augmente (145-204 %) tandis que la deltaméthrine la diminue (32-58 %) de manière dose-dépendante. Tous ces effets sont bloqués par la tétrodotoxine (qui bloque les canaux sodiques voltage-dépendants) et ceux de la deltaméthrine spécifiquement par un antagoniste des canaux calciques (Hossain et coll., 2013).

Le stress est connu pour affecter les systèmes sérotoninergique et dopaminergique. Les interrelations entre ces deux systèmes de neurotransmetteurs sont aussi suggérées indirectement par des études comportementales menées sur des rats adultes après un traitement avec 10 mg/kg de deltaméthrine conduisant à un stress chez les animaux caractérisé par la réduction de l'interaction sociale et les taux élevés de corticostérone (Habr et coll., 2014). La deltaméthrine augmente ces effets chez les rats soumis à un stress supplémentaire induit par un test de la nage forcée. D'autres pyréthrinoïdes favorisent l'apparition de ce type de symptômes ; ainsi, la neurotoxicité de la λ-cyhalothrine a été investiguée à l'aide de modèles de stress chez le rat (test d'immobilisation et de la nage forcée) ; l'association du stress puis du traitement (3 mg/kg, *per os*, pendant 3 jours) comparativement au stress seul ou traitement seul, conduit à une augmentation élevée des niveaux de corticostérone, une perturbation de la fonction de la BHE (pouvant suggérer une possible perte de perméabilité) et une altération des niveaux d'amines biogéniques et de leurs métabolites dans l'hypothalamus, le cortex frontal, l'hippocampe et le striatum (Shukla et coll., 2017).

- ***Glutamate et GABA***

Bien que relativement stables dans leurs effets notamment au niveau dopaminergique, la nature des pyréthrinoïdes ou leur dose, peut avoir une influence sur l'augmentation ou la diminution de niveaux de certains neurotransmetteurs comme le glutamate et le GABA. Ainsi, l'alléthrine augmente le relargage de glutamate dans l'hippocampe à 10 et 20 mg/kg (administration intrapéritonéale) et diminue celui-ci au-delà ; elle a un effet totalement opposé sur le GABA. La cyhalothrine a un effet inhibiteur dose-dépendant sur le glutamate et là aussi totalement opposé sur les niveaux de GABA. Enfin, la deltaméthrine a un effet dose-dépendant activateur sur les niveaux extracellulaires de glutamate et inhibiteur sur le GABA. Cet effet passerait là encore par une action sur les canaux sodiques et calciques voltage-dépendants (Hossain et coll., 2008). Une autre étude dédiée spécifiquement au glutamate montre que la β-cyperméthrine à des doses assez fortes (20-80 mg/kg, dose unique mais exposition courte de 4 h seulement) diminue les niveaux du neurotransmetteur dans le cortex de souris (à 80 mg/kg) sans affecter les niveaux d'activité enzymatique impliqués dans son métabolisme (Cao et coll., 2015). Ces traitements sont associés à des symptômes comportementaux.

Ces résultats obtenus à des doses relativement élevées pourraient être importants car l'équilibre entre les concentrations extracellulaires de GABA (interneurones inhibiteurs) et de glutamate dans l'hippocampe influencent l'apprentissage et la mémoire.

Différenciation neuronale et croissance neuritique

Plusieurs études *in vivo* montrent que les pyréthrinoïdes peuvent affecter la différenciation neuronale notamment la croissance de l'extension neuritique. Une étude de 2013 montre ainsi que l'exposition prénatale à la deltaméthrine (par l'administration d'une dose de 0,75 mg/kg chez les rates gravides pendant les jours 7-10 ou 11-14 de la gestation) conduit à une surexpression de la reeline dans la couche granulaire du cortex cérébelleux, entraînant un défaut d'organisation des couches de cet organe et de la croissance neuritique des cellules de Purkinje (Kumar et coll., 2013). Les effets ont été observés chez la descendance exposée pendant les deux périodes de développement embryonnaire. De même, chez les souris, la perméthrine administrée une seule fois à des doses entre 2 et 75 mg/kg au 10^{e} jour de gestation, conduit à des défauts de développement de l'arbre vasculaire cérébral (dès 2 mg/kg), de l'épaisseur du néocortex et de l'hippocampe associés à des défauts comportementaux (locomoteur, équilibre) chez les souriceaux mâles de 8 semaines, pour certains dès 2 mg/kg (Imanishi et coll., 2013). Ces résultats ne sont cependant pas confirmés *in vitro* par l'utilisation de cellules de phéochromocytome de rat PC-12, une lignée cellulaire utilisée pour étudier les effets neurotoxiques *in vitro* du fait de leur potentialité à être différenciées en cellules présentant des caractéristiques neuronales, comme la présence de neurites (Westerink et Ewing, 2008). Après 5 jours d'exposition, la λ-cyhalothrine, la cyfluthrine, la deltaméthrine et la perméthrine (1-100 μM) ont peu d'effets (Christen et coll., 2017).

En résumé, de nombreux modes d'action sont décrits pour les pyréthrinoïdes et il serait légitime de penser que le ciblage des canaux sodiques voltage-dépendants chez les insectes, rend ces cibles pertinentes chez les vertébrés qui en expriment aussi de nombreuses isoformes. Si plusieurs études démontrent effectivement un impact des pyréthrinoïdes sur celles-ci, de nombreux autres modes d'action pertinents car observés à faibles doses aussi bien *in vivo* que *in vitro*, ont aussi été identifiés (figure 3.2).

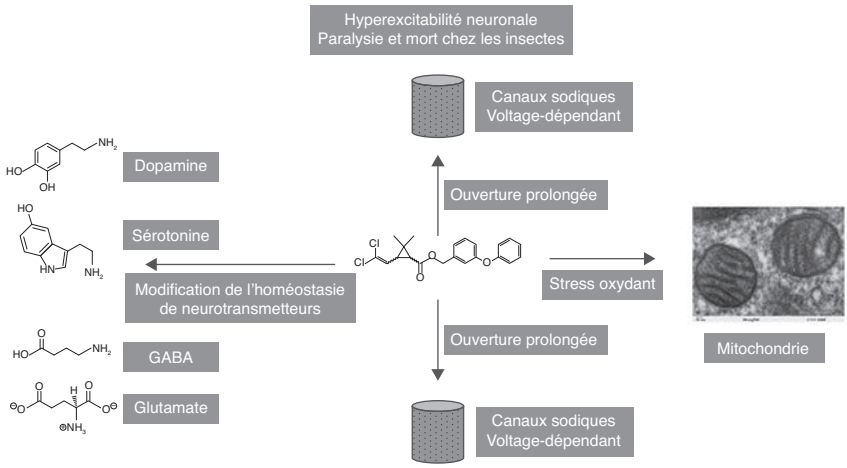


Figure 3.2 : Multiples modes d'action décrits pour les pyréthrinoïdes chez les vertébrés en lien avec des déficits neurocomportementaux

C'est le cas par exemple d'un dysfonctionnement de plusieurs types de canaux calciques, entraîné par plusieurs pyréthrinoïdes (deltaméthrine, cyperméthrine) ou de manière très cohérente, d'une augmentation d'expression du transporteur de la dopamine DAT entraînant probablement une recapture de dopamine. La sensibilité des individus dans ces modes d'action représente un élément clé ; ainsi, des études menées sur la perméabilité de la BHE à différents stades de développement montrent que l'imprégnation cérébrale en deltaméthrine est inversement proportionnelle à l'âge, suggérant que la BHE est hyperperméable chez les jeunes organismes (Amaraneni et coll., 2017). Cette sensibilité des « jeunes » organismes est démontrée sur de nombreux modèles expérimentaux (rongeurs en exposition périnatale, embryons de poissons zèbres) (Liu et coll., 2018 ; Stengel et coll., 2018).

Des mécanismes d'action originaux (ciblage des protéines au protéasome, modifications épigénétiques) pourraient intervenir dans les effets des pyréthrinoïdes mais avec, à l'heure actuelle, peu de publications et parfois des protocoles utilisant de très hautes doses (Bordoni et coll., 2019 ; Huang et coll., 2019 ; Vester et coll., 2020). Enfin, les pyréthrinoïdes sont souvent utilisés en mélange et l'analyse des effets des cocktails de pyréthrinoïdes est une voie de recherche en développement. À titre d'exemple, un cocktail de bifenthrine, téfluthrine, α-cyperméthrine et deltaméthrine sur les fonctions cellulaires a été testé sur des cellules non neuronales (astrocytome C6). Comparativement aux molécules seules, les effets du mélange sont potentialisés et observés pour des concentrations de l'ordre du nanomolaire (Romero et coll., 2017b).

Conclusion

Il existe à ce jour un grand nombre d'études utilisant des biomarqueurs d'exposition qui se sont intéressées aux effets de l'exposition aux insecticides organophosphorés pendant la grossesse sur le développement neuropsychologique de l'enfant. Les premières cohortes de suivi de femmes pendant la grossesse et de leurs enfants ont été décrites dans l'expertise précédente de 2013 ; ces cohortes ont été conduites aux États-unis dans des minorités ethniques ou des populations à faibles revenus et ont montré des déficits cognitifs jusqu'à l'âge de 7 ans en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés.

Depuis, ces observations n'ont pas été rapportées ni à des âges ultérieurs par ces mêmes cohortes, ni par deux des quatre études plus récentes, européennes ou nord-américaines. La diminution des performances cognitives des enfants d'âge scolaire et des altérations du développement psychomoteur et de l'acuité visuelle chez le jeune enfant ont été observées par les études récentes qui présentaient les niveaux d'exposition parmi les plus élevés de la littérature, pour la majorité asiatique et une étude européenne.

L'apparente contradiction des résultats peut être expliquée par une ou plusieurs des hypothèses : une réversibilité possible des effets par des mécanismes de compensation acquis avec l'âge ou par des stimulations cognitives reçues par l'enfant ; l'existence d'une vulnérabilité sociale et/ou ethnique face à ces expositions ; la diminution de l'usage des insecticides organophosphorés au cours de ces deux dernières décennies ; une variation des sources d'exposition et/ou les combinaisons (mélanges) d'insecticides organophosphorés présents dans les produits agricoles et domestiques.

Quelques études de cohortes récentes montrent une atteinte possible des capacités sociales des enfants avec des comportements évocateurs du spectre autistique, observée jusqu'à un âge adolescent, en lien avec l'exposition prénatale aux insecticides organophosphorés.

Les modèles animaux et mécanistiques étudiant la neurotoxicité d'insecticides organophosphorés avaient été abordés dans l'expertise précédente de 2013 (voir chapitre « Mécanismes d'action neurotoxique des pesticides ») et confirmaient la plausibilité biologique d'une neurotoxicité développementale, en particulier pour le chlorpyrifos.

Il n'existe pas de nouvelles études chez l'être humain renforçant le lien suggéré par la précédente expertise de 2013 spécifiquement pour le malathion et le méthyl-parathion (famille des organophosphorés) ainsi que le propoxur (famille des carbamates).

La littérature épidémiologique s'intéressant au rôle des insecticides pyréthrinoïdes sur la santé neurodéveloppementale est récente et fait suite à l'augmentation de leurs usages en substitution aux insecticides organophosphorés. Ces études sont également pour la plupart des cohortes de suivi de femmes pendant la grossesse et de leurs enfants, et utilisent des biomarqueurs urinaires connus pour la mesure de l'exposition. Une concordance de résultats entre les études, quel que soit le contexte, est observée et suggère une augmentation des troubles du comportement de l'enfant de type internalisé (par exemple anxiété) en lien avec l'exposition prénatale aux pyréthrinoïdes. Concernant son rôle sur une diminution des capacités cognitives des enfants, les résultats sont moins convaincants. Aucune molécule spécifique n'a pu être identifiée dans cette littérature.

Si plusieurs études toxicologiques démontrent effectivement un impact des molécules pyréthrinoïdes sur les canaux sodiques voltage-dépendants, ciblés chez les insectes, de nombreux autres modes d'action pertinents ont aussi été identifiés : un dysfonctionnement de plusieurs types de canaux calciques ou une augmentation d'expression du transporteur de la dopamine. Ces mécanismes ont été observés à de faibles doses utilisées *in vivo* ou *in vitro* et en lien avec un impact sur le comportement animal. Des études animales menées à différents stades de développement montrent que l'imprégnation cérébrale en deltaméthrine est inversement proportionnelle à l'âge suggérant que la barrière hémato-encéphalique est hyperperméable chez les plus jeunes organismes, pouvant expliquer leur plus grande sensibilité. La littérature toxicologique depuis 2013 rapporte d'autres mécanismes d'action originaux (ciblage des protéines au protéasome, modifications épigénétiques), ainsi que le rôle des mélanges qui pourraient intervenir dans les mécanismes des molécules pyréthrinoïdes mais qui restent à identifier. Finalement, l'ensemble des données toxicologiques sur les mécanismes d'action apporte des arguments en faveur du rôle de l'exposition prénatale aux insecticides pyréthrinoïdes dans le développement de troubles neuropsychologiques chez l'enfant.

Enfin, l'exposition de la population générale aux pesticides par les applications agricoles à proximité des lieux de vie des populations est particulièrement difficile à évaluer. Plusieurs études, utilisant le géocodage des lieux de résidence pendant la grossesse ou l'enfance pour estimer l'exposition, ont rapporté des déficits intellectuels et un risque plus élevé de présence de troubles du spectre autistique chez les enfants en lien avec la proximité résidentielle (< 1,5 km) aux activités agricoles. En particulier, ont été incriminées les familles organophosphorées, pyréthrinoïdes et carbamates, en cohérence avec les études utilisant des biomarqueurs d'exposition. Concernant l'usage pendant la grossesse au domicile de produits pour lutter contre des insectes ou autres nuisibles, le niveau de preuve d'une atteinte neurodéveloppementale possible chez l'enfant reste faible.

Tableau 3.I : Principales cohortes mères-enfants d'Europe et d'Amérique du Nord, utilisant des marqueurs urinaires ou sanguins d'exposition aux insecticides organophosphorés et pyréthrinoïdes pendant la grossesse

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales	Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte CHAMACOS *Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas* Bouchard et coll., 2011 Stein et coll., 2016 Sagiv et coll., 2018	Vallée de Salinas, Californie, États-Unis 1999-2000 n = 601 (inclusion lors de visite prénatale)	DAP m(g) = 125 nmol/l m(g) = 144 nmol/g créat DMP m(g) = 93 nmol/l m(g) = 106 nmol/g créat DEP m(g) = 20 nmol/l m(g) = 24 nmol/g créat (Sagiv et coll., 2018 ; données imputées lorsque < LOD)	Comportement social/traits évocateurs du spectre autistique : *Social Responsiveness Scale Version 2* (SRS-2), auto-rapporté par les parents à 14 ans de l'enfant pour les 6 derniers mois Comportement général dont les capacités sociales : *Behavioral Assessment Scale for Children Version 2* (BASC-2), auto-rapporté par les parents et les enseignants à 7 ans, et par les parents à 10,5 et 14 ans pour les derniers mois Performances intellectuelles (QI) : *The Wechsler Intelligence Scale*, 4e édition (WISC-IV), par des psychologues à 7 ans Perception sociale/capacité à deviner les émotions des autres : *Evaluación Neuropsicológica Infantil, Facial Expression Recognition Test*, par des psychologues à 9 ans ; et NEPSY-II affect Recognition, par des psychologues à 12 ans
Cohorte multiethnique CEHS *Children's Environmental Health Study* de l'hôpital Mount Sinaï à New York Furlong et coll., 2017a et b	New York, États-Unis 1998-2001 n = 404 (inclusion lors de visite prénatale)	DMP m(g) = 37 nmol/l DEP m(g) = 17 nmol/l (Furlong et coll., 2017a ; données imputées lorsque < LOD) 3-PBA 30 % > LOD (75e perc = 0,34 µg/l) *cis*-DCCA 14 % > LOD *trans*-DCCA 22 % > LOD (Furlong et coll., 2017b)	Fonctions exécutives : *Behavior Rating Inventory of Executive Functioning* (BRIEF) auto-rapporté par les parents à 4, 6, 7-9 ans pour les 6 derniers mois Comportement général : *Behavioral Assessment Scale for Children Version 2* (BASC-2), auto-rapporté par les parents à 4, 6, 7-9 ans pour les derniers mois Performances intellectuelles (QI) : *Wechsler Preschool and Primary Scales of Intelligence-III* (WPPSI-III) par des psychologues à 6 ans et *Wechsler Intelligence Scales-IV* (WISC-IV) par des psychologues à 7-9 ans

Tableau 3.I : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales	Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte CCCEH *Columbia Center for Children's Environmental Health* de l'Université Columbia Horton et coll., 2011 Rauh et coll., 2015	New York, États-Unis 1998-2006 n = 725 (inclusion lors de visite prénatale)	Sang de cordon Chlorpyrifos 60 % > LOD m(a) = 0,36 pg/g *cis*-Perméthrine 7 % > LOD *trans*-Perméthrine 5 % > LOD (Horton et coll., 2011)	Développement cognitif et du langage (*Mental Developmental Index*) et moteur (*Psychomotor Developmental Index*) : *Bayley Scales of Infant Development, Second Edition* (Bayley-II), par des enquêteurs formés, à 36 mois Dessins de la spirale d'Archimède, à l'âge de 11 ans ; avec un codage des tremblements par un neurologue spécialisé dans les troubles moteurs
Cohorte HOME *Health Outcomes and Measures of the Environment* Yolton et coll., 2013 Donauer et coll., 2016 Millenson et coll., 2017	Cincinnati, États-Unis 2003-2006 n = 398 (inclusion lors de visite prénatale)	DAP 100 % > LOD m(g) = 74 nmol/l m = 97 nmol/g créat DMP 100 % > LOD m(g) = 46 nmol/l m = 64 nmol/g créat DEP 93 % > LOD m(g) = 9 nmol/l m = 21 nmol/g créat (Yolton et coll., 2013 ; Donauer et coll., 2016)	Réflexes et réactions aux stimuli sensoriels : NICU *Network Neurobehavioral Scale* (NNNS) à 5 semaines de vie Développement cognitif, du langage (*Mental Developmental Index*) et moteur (*Psychomotor Developmental Index*) : *Bayley Scales of Infant Development, Second Edition* (Bayley-II), par deux enquêteurs formés, à 1, 2 et 3 ans Développement du langage et de la communication : *Clinical Evaluation of Language Fundamentals-Preschool, Second Édition*, par deux enquêteurs formés, à 4 ans Performances intellectuelles (QI) : *Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence, Third Edition*, par deux enquêteurs formés, à 5 ans Comportement social/traits évocateurs du spectre autistique : *Social Responsiveness Scale* Version 2 (SRS-2), auto-rapporté par les parents à 8 ans de l'enfant pour les 6 derniers mois

Tableau 3.I : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales	Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte à Central Ohio Fluegge et coll., 2016	Central Ohio, États-Unis 2002-2005 n = 140 (inclusion lors de visite prénatale)	TCPy m = 20 ng/kg/j IMPy 15 % > LOD 3-PBA 96 % > LOD m = 8 ng/kg/j (sur valeurs > LOD) *cis*-DCCA 50 % > LOD m = 0,01 ng/kg/j (sur valeurs > LOD) *trans*-DCCA 58 % > LOD m = 5,5 ng/kg/j (sur valeurs > LOD) 4F3-PBA, DMCA1/2, CIAA et DBCA < 15 % > LOD	Développement cognitif, du langage (*Mental Developmental Index*) et moteur (*Psychomotor Developmental Index*) : *Bayley Scales of Infant Development, Second Edition* (Bayley-II) à 3 mois
Cohorte PELAGIE Perturbateurs endocriniens : étude longitudinale sur les anomalies de la grossesse, l'infertilité et l'enfance Viel et coll., 2015, 2017 Cartier et coll., 2016, 2018	Bretagne, France 2002-2006 n = 3 421 (inclusion lors de la 1re visite prénatale)	DAP 91 % > LOD m = 44 nmol/l DMP 90 % > LOD m = 34 nmol/l DEP 40 % > LOD 75e perc = 13 nmol/l 3-PBA 30 % > LOD 4F3-PBA 9 % > LOD *cis*-DCCA 65 % > LOD m = 0,09 µg/l *trans*-DCCA 98 % > LOD m = 0,14 µg/l *cis*-DBCA 68 % > LOD m = 0,10 µg/l (Cartier et coll., 2016 ; Viel et coll., 2015)	Performances intellectuelles (QI) : *Wechsler Intelligence Scales-IV* (WISC-IV) par deux psychologues à 6 ans Comportement général : *Strength and Difficulties Questionnaire*, auto-rapporté par les parents à 6 ans, pour les derniers mois

Tableau 3.I : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales	Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte GENERATION R Jusko et coll., 2019	Région de Rotterdam, Pays-Bas 2002-2006 n = 9 778 (inclusion lors de visite prénatale)	DAP n.r. % > LOD m = 310 nmol/g créat DMP n.r. % > LOD m = 253 nmol/g créat DEP n.r. % > LOD m = 42 nmol/g créat (Pour les urines collectées > 25 semaines de grossesse ; médianes équivalentes pour les 2 premiers trimestres de grossesse)	Capacités non verbales visuospatiales et de raisonnement abstrait : sous-tests *Mosaics* et *Categories* du *Snijders-Oomen Nonverbal Intelligence Test–Revised*, test développé aux Pays-Bas indépendant du langage
Cohorte OCC *Odense Child Cohort* Dalsager et coll., 2019	Région d'Odense, Danemark 2010-2012 n = 2 500 (inclusion lors de visite prénatale)	TCPy 90 % > LOD m = 1,61 µg/l 3-PBA 94 % > LOD m = 0,24 µg/l 4F3-PBA 0,1 % > LOD *cis*-DCCA 2,8 % > LOD *trans*-DCCA 11,4 % > LOD *cis*-DBCA 3 % > LOD	Comportement de l'enfant, indices relatifs à des déficits attentionnels, de l'hyperactivité, et de l'impulsivité : *Child Behavior Check List (CBCL)* pour les âges de 1,5 an à 5 ans, auto-rapporté par les parents à l'âge de 27 mois de leur enfant
Cohorte ELEMENT *Early Life Exposures in Mexico to Environmental Toxicants* Fortenberry et coll., 2014 Watkins et coll., 2016	Mexique 1997-2005 n = 187 (inclusion lors de visite prénatale)	TCPy 90 % > LOD m = 1,8 µg/l 3-PBA 46 % > LOD m(g) = 0,26 µg/l (sur valeurs > LOD) 75e perc = 0,34 µg/l	Comportement de l'enfant, indices relatifs à des déficits attentionnels, de l'hyperactivité, et de l'impulsivité : *Conners' Parental Rating Scales-Revised* (CPRS-R), *Parental Rating Scales* (PRS) du *Behavior Assessment System for Children* (BASC), auto-rapportés par les parents et le *Continuous Performance Test* (CPT) sur ordinateur pour l'âge de 6-11 ans de leur enfant

Tableau 3.I : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales	Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte VHEMBE *Venda Health Examination of Mothers, Babies and the Environment* Eskenazi et coll., 2018	Limpopo, Afrique du Sud 2012-2013 n = 752 (inclusion à l'accouchement)	3-PBA 100 % > LOD m = 0,7 µg/l 4F3-PBA 12 % > LOD *cis*-DCCA 100 % > LOD m = 0,30 µg/l *trans*-DCCA 100 % > LOD m = 0,34 µg/l *cis*-DBCA 100 % > LOD m = 0,22 µg/l	Développement cognitif et du langage (*Mental Developmental Index*) et moteur (*Psychomotor Developmental Index*) : *Bayley Scales of Infant Development, Third Edition (BSID-III),* par des enquêteurs formés, à 1 an (échelle complète) et 2 ans (sans le domaine socio-émotionnel). Noter que la BSID prévoit que la sphère socio-émotionnelle est auto-rapportée par la mère
Cohorte LWBC *Laizhou Wan Birth Cohort* Wang et coll., 2017	Shandong, Chine 2011-2013 n = 436 (inclusion à l'accouchement)	DAP n.r. % > LOD m = 353 nmol/g créat (DEP, DETP, DMP, DMTP)	Quatre domaines de développement de l'enfant (social, langage, adaptative, et moteur) : *Gesell Developmental Schedules*, par des pédiatres formés, à l'âge de 12 et 24 mois de l'enfant
Cohorte de Shenyang Zhang et coll., 2014	Chine 2011-2012 n = 249 (inclusion à l'accouchement)	DMP n.r. % > LOD m = 284 nmol/l (DMP, DMTP) DEP n.r. % > LOD m = 107 nmol/l	Comportement et tests de réflexes et réactions du nouveau-né : *Neonatal Behavioral Neurological Assessment*, par deux enquêteurs formés, aux 3 jours de vie
Cohorte de Fuyang Silver et coll., 2017, 2018	Région agricole de Zhejiang, Chine 2008-2011 n = 359 (inclusion en visite prénatale de fin de grossesse)	Sang de cordon Chlorpyrifos 37 % > LOD 75e perc = 0,56 ng/ml (Silver et coll., 2017)	Capacités motrices : *Peabody Developmental Motor Scale*s par un enquêteur formé à l'âge de 6 semaines et 9 mois Acuité visuelle du jeune enfant : *Teller acuity card,* par un enquêteur formé à l'âge de 6 semaines, 9 et 18 mois Activité électrique cérébrale autour des zones de fonction de l'audition : *Auditory brainstem response* par un enquêteur formé à l'âge de 6 semaines, 9 et 18 mois

Tableau 3.I : (suite)

Cohortes Références	Période et région d'inclusion	Concentrations urinaires maternelles/prénatales	Évaluations neuropsychologiques et comportementales des enfants
Cohorte *Sheyang Mini Birth Cohort* Liu et coll., 2016 Guo et coll., 2019	Région agricole de Sheyang, Chine 2009-2010 n = 1 303 (inclusion à l'accouchement)	DAP 100 % > LOD m = 296 nmol/l DMP 100 % > LOD m = 128 nmol/l DEP 100 % > LOD m = 135 nmol/l TCPγ 100 % > LOD m = 5,4 µg/l m = 7,7 µg/g créat	Quatre domaines de développement de l'enfant (social, langage, adaptative, et moteur) : *Gesell Developmental Schedules*, par des pédiatres formés, à l'âge de 24 et 36 mois de l'enfant
Cohorte à Tokyo Hisada et coll., 2017	Tokyo, Japon 2009-2011 n = 194 (inclusion en début de grossesse)	3-PBA n.r. % > LOD m = 0,39 ng/ml	Développement (social, langage, moteur) et comportement de l'enfant : *Kinder Infant Development Scale*, auto-rapporté par la mère avant l'âge de 18 mois

3-PBA : acide 3-phénoxybenzoïque (métabolite de pyréthrinoïdes) ; 4F3-PBA : acide 4-fluoro-3-phénoxybenzoïque (métabolite de pyréthrinoïdes) ; CIAA : acide 4-chlorophényl-2-isopropylacétique (métabolite de pyréthrinoïdes) ; créat : créatinine ; DAP : dialkylphosphates (métabolites des organophosphorés, somme de 6 métabolites de la famille des DEP et DMP ; sauf quand précisé) ; DBCA : acide 3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-carboxylique (métabolite de la deltaméthrine) ; DCCA : acide 3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-carboxylique (métabolite de la perméthrine, cyperméthrine, et la cyfluthrine) ; DEP : diéthylphosphates (somme de 3 métabolites : DEP, DETP, DEDTP) ; DMCA1/2 : acide 3-(2,2-diméthylvinyl)-2,2-diméthylcycplopropane-carboxylique (métabolites de pyréthrinoïdes) ; DMP : diméthylphosphates (somme de 3 métabolites : DMP, DMTP, DMDTP) ; LOD : limite de détection ; m : médiane ; m(a) : moyenne arithmétique ; m(g) : moyenne géométrique ; n.r. : non renseigné dans les articles ; perc : percentile ; TCPγ : 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (métabolite du chlorpyrifos) ; IMPy : 2-isopropyl-4-méthyl-6-hydroxypyrimidine (métabolite du diazinon)

RÉFÉRENCES

• Étude financée par un industriel des phytosanitaires

Abdelhafidh K, Mhadhbi L, Mezni A, *et al.* Protective effect of Zizyphus lotus jujube fruits against cypermethrin-induced oxidative stress and neurotoxicity in mice. *Biomarkers* 2018 ; 23 : 167-73.

Amaraneni M, Pang J, Mortuza TB, *et al.* Brain uptake of deltamethrin in rats as a function of plasma protein binding and blood-brain barrier maturation. *Neurotoxicology* 2017 ; 62 : 24-9.

Anand SS, Kim K-B, Padilla S, *et al.* Ontogeny of hepatic and plasma metabolism of deltamethrin in vitro: role in age-dependent acute neurotoxicity. *Drug Metab Dispos* 2006 ; 34 : 389-97.

ATDSR. *Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids*. US. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, GA, USA, 2003.

Baskar MK, Murthy PB. Acute in vitro neurotoxicity of some pyrethroids using microelectrode arrays. *Toxicol In Vitro* 2018 ; 47 : 165-77.

Bloomquist JR, Barlow RL, Gillette JS, *et al.* Selective effects of insecticides on nigrostriatal dopaminergic nerve pathways. *Neurotoxicology* 2002 ; 23 : 537-44.

Bordoni L, Nasuti C, Fedeli D, *et al.* Early impairment of epigenetic pattern in neurodegeneration: Additional mechanisms behind pyrethroid toxicity. *Exp Gerontol* 2019 ; 124 : 110629.

Bouchard MF, Chevrier J, Harley KG, *et al.* Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7-year-old children. *Environ Health Perspect* 2011 ; 119 : 1189-95.

Bouchard MF, Bellinger DC, Wright RO, *et al.* Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides. *Pediatrics* 2010 ; 125 : e1270-7.

Bouvier G, Seta N, Vigouroux-Villard A, *et al.* Insecticide urinary metabolites in nonoccupationally exposed populations. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2005 ; 8 : 485-512.

Brander SM, Gabler MK, Fowler NL, *et al.* Pyrethroid pesticides as endocrine disruptors: molecular mechanisms in vertebrates with a focus on fishes. *Environ Sci Technol* 2016 ; 50 : 8977-92.

Burr SA, Ray DE. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels. *Toxicological Sciences* 2004 ; 77 : 341-6. •

Cao D, Chen N, Zhu C, *et al.* beta-cypermethrin-induced acute neurotoxicity in the cerebral cortex of mice. *Drug Chem Toxicol* 2015 ; 38 : 44-9.

Cartier C, Warembourg C, Monfort C, *et al.* Children's contrast sensitivity function in relation to organophosphate insecticide prenatal exposure in the mother-child PELAGIE cohort. *Neurotoxicology* 2018 ; 67 : 161-8.

Cartier C, Warembourg C, Le Maner-Idrissi G, *et al.* Organophosphate insecticide metabolites in prenatal and childhood urine samples and intelligence scores at 6 years of age: results from the mother-child PELAGIE Cohort (France). *Environ Health Perspect* 2016 ; 124 : 674-80.

Christen V, Rusconi M, Crettaz P, *et al.* Developmental neurotoxicity of different pesticides in PC-12 cells in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 2017 ; 325 : 25-36.

Chushak YG, Shows HW, Gearhart JM, *et al.* In silico identification of protein targets for chemical neurotoxins using ToxCast in vitro data and read-across within the QSAR toolbox. *Toxicol Res (Camb)* 2018 ; 7 : 423-31.

Clark JM, Symington SB. Neurotoxic implications of the agonistic action of CS-syndrome pyrethroids on the N-type Ca(v)2.2 calcium channel. *Pest Manag Sci* 2008 ; 64 : 628-38.

Dalsager L, Fage-Larsen B, Bilenberg N, *et al.* Maternal urinary concentrations of pyrethroid and chlorpyrifos metabolites and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) symptoms in 2-4-year-old children from the Odense Child Cohort. *Environ Res* 2019 ; 176 : 108533.

Donauer S, Altaye M, Xu Y, *et al.* An observational study to evaluate associations between low-level gestational exposure to organophosphate pesticides and cognition during early childhood. *Am J Epidemiol* 2016 ; 184 : 410-8.

Dusza HM, Cenijn PH, Kamstra JH, *et al.* Effects of environmental pollutants on calcium release and uptake by rat cortical microsomes. *Neurotoxicology* 2018 ; 69 : 266-77.

Elwan MA, Richardson JR, Guillot TS, *et al.* Pyrethroid pesticide-induced alterations in dopamine transporter function. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006 ; 211 : 188-97.

Engel SM, Bradman A, Wolff MS, *et al.* Prenatal organophosphorus pesticide exposure and child neurodevelopment at 24 months: an analysis of four birth cohorts. *Environ Health Perspect* 2016 ; 124 : 822-30.

Eskenazi B, An S, Rauch SA, *et al.* Prenatal exposure to DDT and pyrethroids for malaria control and child neurodevelopment: The VHEMBE Cohort, South Africa. *Environ Health Perspect* 2018 ; 126 : 47004.

Fluegge KR, Nishioka M, Wilkins JR, 3rd. Effects of simultaneous prenatal exposures to organophosphate and synthetic pyrethroid insecticides on infant neurodevelopment at three months of age. *J Environ Toxicol Public Health* 2016 ; 1 : 60-73.

Fortenberry GZ, Meeker JD, Sanchez BN, *et al.* Urinary 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPY) in pregnant women from Mexico City: distribution, temporal variability, and relationship with child attention and hyperactivity. *Int J Hyg Environ Health* 2014 ; 217 : 405-12.

Furlong MA, Herring A, Buckley JP, *et al.* Prenatal exposure to organophosphorus pesticides and childhood neurodevelopmental phenotypes. *Environ Res* 2017a ; 158 : 737-47.

Furlong MA, Barr DB, Wolff MS, *et al.* Prenatal exposure to pyrethroid pesticides and childhood behavior and executive functioning. *Neurotoxicology* 2017b ; 62 : 231-8.

Furlong MA, Engel SM, Barr DB, *et al.* Prenatal exposure to organophosphate pesticides and reciprocal social behavior in childhood. *Environ Int* 2014 ; 70 : 125-31.

Gargouri B, Bouchard M, Saliba SW, *et al.* Repeated bifenthrin exposure alters hippocampal Nurr-1/AChE and induces depression-like behavior in adult rats. *Behav Brain Res* 2019 ; 370 :111898.

Gargouri B, Yousif NM, Bouchard M, *et al.* Inflammatory and cytotoxic effects of bifenthrin in primary microglia and organotypic hippocampal slice cultures. *J Neuroinflammation* 2018a ; 15 : 159.

Gargouri B, Yousif NM, Attaai A, *et al.* Pyrethroid bifenthrin induces oxidative stress, neuroinflammation, and neuronal damage, associated with cognitive and memory impairment in murine hippocampus. *Neurochem Int* 2018b ; 120 : 121-33.

Gasmi S, Rouabhi R, Kebieche M, *et al.* Effects of Deltamethrin on striatum and hippocampus mitochondrial integrity and the protective role of Quercetin in rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2017 ; 24 : 16440-57.

Gillette J, Bloomquist JR. Differential up-regulation of striatal dopamine transporter and α-synuclein by the pyrethroid insecticide permethrin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003 ; 192 : 287-93.

Gonzalez-Alzaga B, Hernandez AF, Rodriguez-Barranco M, *et al.* Pre- and postnatal exposures to pesticides and neurodevelopmental effects in children living in agricultural communities from South-Eastern Spain. *Environ Int* 2015 ; 85 : 229-37.

González-Alzaga B, Lacasaña M, Aguilar-Garduño C, *et al.* A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. *Toxicol Lett* 2014 ; 230 : 104-21.

Gunier RB, Bradman A, Harley KG, *et al.* Prenatal residential proximity to agricultural pesticide use and IQ in 7-year-old children. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 57002.

Guo J, Zhang J, Wu C, *et al.* Associations of prenatal and childhood chlorpyrifos exposure with neurodevelopment of 3-year-old children. *Environ Pollut* 2019 ; 251 : 538-46.

Habr SF, Macrini DJ, Florio JC, *et al.* Repeated forced swim stress has additive effects in anxiety behavior and in cathecolamine levels of adult rats exposed to deltamethrin. *Neurotoxicol Teratol* 2014 ; 46 : 57-61.

Hedges L, Brown S, Vardy A, *et al.* Metabolism of deltamethrin and cis- and trans-permethrin by rat and human liver microsomes, liver cytosol and plasma preparations. *Xenobiotica* 2019 ; 49 : 388-96.

Hirata K. Studies on the mode of action of neurotoxic insecticides. *J Pestic Sci* 2016 ; 41 : 87-94.

Hisada A, Yoshinaga J, Zhang J, *et al.* Maternal exposure to pyrethroid insecticides during pregnancy and infant development at 18 months of age. *Int J Environ Res Public Health* 2017 ; 14 : 52.

Horton MK, Rundle A, Camann DE, *et al.* Impact of prenatal exposure to piperonyl butoxide and permethrin on 36-month neurodevelopment. *Pediatrics* 2011 ; 127 : e699-706.

Hossain MM, Suzuki T, Richardson JR, *et al.* Acute effects of pyrethroids on serotonin release in the striatum of awake rats: an in vivo microdialysis study. *J Biochem Mol Toxicol* 2013 ; 27 : 150-6.

Hossain MM, Suzuki T, Unno T, *et al.* Differential presynaptic actions of pyrethroid insecticides on glutamatergic and GABAergic neurons in the hippocampus. *Toxicology* 2008 ; 243 : 155-63.

Hsu S-S, Jan C-R, Liang W-Z. The investigation of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin (LCT)-affected Ca(2+) homeostasis and -activated Ca(2+)-associated mitochondrial apoptotic pathway in normal human astrocytes : The evaluation of protective effects of BAPTA-AM (a selective Ca(2+) chelator). *Neurotoxicology* 2018 ; 69 : 97-107.

Huang X, Liang Y, Qing Y, *et al.* Proteasome inhibition by MG-132 protects against deltamethrin-induced apoptosis in rat hippocampus. *Life Sci* 2019 ; 220 : 76-83.

Hughes MF, Ross DG, Starr JM, *et al.* Environmentally relevant pyrethroid mixtures: A study on the correlation of blood and brain concentrations of a mixture of pyrethroid insecticides to motor activity in the rat. *Toxicology* 2016a ; 359-360 : 19-28.

Hughes MF, Ross DG, Edwards BC, *et al.* Tissue time course and bioavailability of the pyrethroid insecticide bifenthrin in the Long-Evans rat. *Xenobiotica* 2016b ; 46 : 430-8.

Imanishi S, Okura M, Zaha H, *et al.* Prenatal exposure to permethrin influences vascular development of fetal brain and adult behavior in mice offspring. *Environ Toxicol* 2013 ; 28 : 617-29.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé.* Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1 001 p.

Johnstone AFM, Strickland JD, Crofton KM, *et al.* Effects of an environmentally-relevant mixture of pyrethroid insecticides on spontaneous activity in primary cortical networks on microelectrode arrays. *Neurotoxicology* 2017 ; 60 : 234-9.

Jusko TA, van den Dries, Michiel A, Pronk A, *et al.* Organophosphate pesticide metabolite concentrations in urine during pregnancy and offspring nonverbal IQ at age 6 years. *Environ Health Perspect* 2019 ; 127 : 17007.

Khalatbary AR, Ghaffari E, Mohammadnegad B. Protective role of oleuropein against acute deltamethrin-induced neurotoxicity in rat brain. *Iran Biomed J* 2015 ; 19 : 247-53.

Klaassen CD. Casarett & Doull's toxicology: the basic science of poisons, 6th ed. *J Am Coll Nutr* 2002 ; 21 : 289-90.

Kumar K, Patro N, Patro I. Impaired structural and functional development of cerebellum following gestational exposure of deltamethrin in rats : role of reelin. *Cell Mol Neurobiol* 2013 ; 33 : 731-46.

Laugeray A, Herzine A, Perche O, *et al.* In utero and lactational exposure to low-doses of the pyrethroid insecticide cypermethrin leads to neurodevelopmental defects in male mice – An ethological and transcriptomic study. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0184475.

Leng G, Berger-Preiss E, Levsen K, *et al*. Pyrethroids used indoor-ambient monitoring of pyrethroids following a pest control operation. *Int J Hyg Environ Health* 2005 ; 208 : 193-9.

Liu P, Wu C, Chang X, *et al*. Adverse associations of both prenatal and postnatal exposure to organophosphorous pesticides with infant neurodevelopment in an agricultural area of Jiangsu Province, China. *Environ Health Perspect* 2016 ; 124 : 1637-43.

Liu X, Zhang Q, Li S, *et al*. Developmental toxicity and neurotoxicity of synthetic organic insecticides in zebrafish (Danio rerio) : A comparative study of deltamethrin, acephate, and thiamethoxam. *Chemosphere* 2018 ; 199 : 16-25.

Llop S, Julvez J, Fernandez-Somoano A, *et al*. Prenatal and postnatal insecticide use and infant neuropsychological development in a multicenter birth cohort study. *Environ Int* 2013 ; 59 : 175-82.

Lucki I. The spectrum of behaviors influenced by serotonin. *Biol. Psychiatry* 1998 ; 44 : 151-62.

Magby JP, Richardson JR. Role of calcium and calpain in the downregulation of voltage-gated sodium channel expression by the pyrethroid pesticide deltamethrin. *J Biochem Mol Toxicol* 2015 ; 29 : 129-34.

Marks AR, Harley K, Bradman A, *et al*. Organophosphate pesticide exposure and attention in young Mexican-American children : the CHAMACOS study. *Environ Health Perspect* 2010 ; 118 : 1768-74.

Maurya SK, Mishra J, Tripathi VK, *et al*. Cypermethrin induces astrocyte damage: role of aberrant Ca(2+), ROS, JNK, P38, matrix metalloproteinase 2 and migration related reelin protein. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2014 ; 111 : 51-9.

Meijer M, Dingemans MML, van den Berg M, *et al*. Inhibition of voltage-gated calcium channels as common mode of action for (mixtures of) distinct classes of insecticides. *Toxicol Sci* 2014 ; 141 : 103-11.

Millenson ME, Braun JM, Calafat AM, *et al*. Urinary organophosphate insecticide metabolite concentrations during pregnancy and children's interpersonal, communication, repetitive, and stereotypic behaviors at 8 years of age: The home study. *Environ Res* 2017 ; 157 : 9-16.

Mortuza TB, Edwards GL, White CA, *et al*. Age dependency of blood-brain barrier penetration by cis- and trans-permethrin in the rat. *Drug Metab Dispos* 2019 ; 47 : 234-7.

Muguruma M, Unami A, Kanki M, *et al*. Possible involvement of oxidative stress in piperonyl butoxide induced hepatocarcinogenesis in rats. *Toxicology* 2007 ; 236 : 61-75.

Oulhote Y, Bouchard MF. Urinary metabolites of organophosphate and pyrethroid pesticides and behavioral problems in Canadian children. *Environ Health Perspect* 2013 ; 121 : 1378-84.

Personne S. *Développement d'un modèle toxicocinétique basé sur la physiologie pour la perméthrine et ses métabolites chez la rate gestante*. Université de Picardie Jules Verne. Amiens. Thèse de Doctorat, 2019.

Quiros-Alcala L, Mehta S, Eskenazi B. Pyrethroid pesticide exposure and parental report of learning disability and attention deficit/hyperactivity disorder in U.S. children: NHANES 1999-2002. *Environ Health Perspect* 2014 ; 122 : 1336-42.

Rajawat NK, Soni I, Syed F, *et al*. Effect of beta-cyfluthrin (synthetic pyrethroid) on learning, muscular coordination and oxidative stress in Swiss albino mice. *Toxicol Ind Health* 2019 ; 35 : 358-67.

Rauh VA, Garcia WE, Whyatt RM, *et al*. Prenatal exposure to the organophosphate pesticide chlorpyrifos and childhood tremor. *Neurotoxicology* 2015 ; 51 : 80-6.

Rauh VA, Perera FP, Horton MK, *et al*. Brain anomalies in children exposed prenatally to a common organophosphate pesticide. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : 7871-6.

Richardson JR, Taylor MM, Shalat SL, *et al*. Developmental pesticide exposure reproduces features of attention deficit hyperactivity disorder. *FASEB J* 2015 ; 29 : 1960-72.

Rodriguez JL, Ares I, Castellano V, *et al*. Effects of exposure to pyrethroid cyfluthrin on serotonin and dopamine levels in brain regions of male rats. *Environ Res* 2016 ; 146 : 388-94.

Rodriguez J-L, Ares I, Martinez M, *et al*. Bioavailability and nervous tissue distribution of pyrethroid insecticide cyfluthrin in rats. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 220-6.

Romero A, Ramos E, Ares I, *et al*. Oxidative stress and gene expression profiling of cell death pathways in alpha-cypermethrin-treated SH-SY5Y cells. *Arch Toxicol* 2017a ; 91 : 2151-64.

Romero DM, Berardino BG, Wolansky MJ, *et al*. From the cover: vulnerability of C6 astrocytoma cells after single-compound and joint exposure to type I and type II pyrethroid insecticides. *Toxicol Sci* 2017b ; 155 : 196-212.

Rowe C, Gunier R, Bradman A, *et al*. Residential proximity to organophosphate and carbamate pesticide use during pregnancy, poverty during childhood, and cognitive functioning in 10-year-old children. *Environ Res* 2016 ; 150 : 128-37.

Sagiv SK, Harris MH, Gunier RB, *et al*. Prenatal organophosphate pesticide exposure and traits related to autism spectrum disorders in a population living in proximity to agriculture. *Environ Health Perspect* 2018 ; 126 : 47012.

Saoudi M, Slama-Ben Salem RB, Salem MB, *et al*. Beneficial effects of crataegus oxyacantha extract on neurobehavioral deficits and brain tissue damages induced by an insecticide mixture of deltamethrin and chlorpyrifos in adult wistar rats. *Biomed Pharmacother* 2019 ; 114 : 108795.

Sapbamrer R, Hongsibsong S. Effects of prenatal and postnatal exposure to organophosphate pesticides on child neurodevelopment in different age groups: a systematic review. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019.

Schmidt RJ, Kogan V, Shelton JF, *et al*. Combined prenatal pesticide exposure and folic acid intake in relation to autism spectrum disorder. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 97007.

Scollon EJ, Starr JM, Godin SJ, *et al.* In vitro metabolism of pyrethroid pesticides by rat and human hepatic microsomes and cytochrome p450 isoforms. *Drug Metab Dispos* 2009 ; 37 : 221-8.

Shelton JF, Geraghty EM, Tancredi DJ, *et al.* Neurodevelopmental disorders and prenatal residential proximity to agricultural pesticides: the CHARGE study. *Environ Health Perspect* 2014 ; 122 : 1103-9.

Shukla RK, Dhuriya YK, Chandravanshi LP, *et al.* Influence of immobilization and forced swim stress on the neurotoxicity of lambda-cyhalothrin in rats: Effect on brain biogenic amines and BBB permeability. *Neurotoxicology* 2017 ; 60 : 187-96.

Silver MK, Shao J, Ji C, *et al.* Prenatal organophosphate insecticide exposure and infant sensory function. *Int J Hyg Environ Health* 2018 ; 221 : 469-78.

Silver MK, Shao J, Zhu B, *et al.* Prenatal naled and chlorpyrifos exposure is associated with deficits in infant motor function in a cohort of Chinese infants. *Environ Int* 2017 ; 106 : 248-56.

Sooresh A, Sayes CM, Pine M. Effects of a novel pesticide-particle conjugate on viability and reactive oxygen species generation in neuronal (PC12) cells. *Drug Chem Toxicol* 2015 ; 38 : 205-11.

Sourkes TL, Poirier L. Influence of the substantia nigra on the concentration of 5-hydroxytryptamine and dopamine of the striatum. *Nature* 1965 ; 207 : 202-3.

Stein LJ, Gunier RB, Harley K, *et al.* Early childhood adversity potentiates the adverse association between prenatal organophosphate pesticide exposure and child IQ: The CHAMACOS cohort. *Neurotoxicology* 2016 ; 56 : 180-7.

Stengel D, Wahby S, Braunbeck T. In search of a comprehensible set of endpoints for the routine monitoring of neurotoxicity in vertebrates : sensory perception and nerve transmission in zebrafish (Danio rerio) embryos. *Environ Sci Pollut Res Int* 2018 ; 25 : 4066-84.

Suarez-Lopez JR, Checkoway H, Jacobs DR, JR, *et al.* Potential short-term neurobehavioral alterations in children associated with a peak pesticide spray season: The Mother's Day flower harvest in Ecuador. *Neurotoxicology* 2017 ; 60 : 125-33.

Syed F, Awasthi KK, Chandravanshi LP, *et al.* Bifenthrin-induced neurotoxicity in rats: involvement of oxidative stress. *Toxicol Res (Camb)* 2018 ; 7 : 48-58.

Syed F, John PJ, Soni I. Neurodevelopmental consequences of gestational and lactational exposure to pyrethroids in rats. *Environ Toxicol* 2016 ; 31 : 1761-70.

Tanaka T. Reproductive and neurobehavioural effects of piperonyl butoxide administered to mice in the diet. *Food Addit Contam* 2003 ; 20 : 207-14.

Toescu EC, Verkhratsky A. The importance of being subtle: small changes in calcium homeostasis control cognitive decline in normal aging. *Aging Cell* 2007 ; 6 : 267-73.

Varro P, Kovacs M, Vilagi I. The insecticide esfenvalerate modulates neuronal excitability in mammalian central nervous system in vitro. *Toxicol Lett* 2017 ; 267 : 39-44.

Vester AI, Hermetz K, Burt A, *et al.* Combined neurodevelopmental exposure to deltamethrin and corticosterone is associated with Nr3c1 hypermethylation in the midbrain of male mice. *Neurotoxicol Teratol* 2020 ; 80 : 106887.

Viel J-F, Rouget F, Warembourg C, *et al.* Behavioural disorders in 6-year-old children and pyrethroid insecticide exposure: the PELAGIE mother-child cohort. *Occup Environ Med* 2017 ; 74 : 275-81.

Viel J-F, Warembourg C, Le Maner-Idrissi G, *et al.* Pyrethroid insecticide exposure and cognitive developmental disabilities in children : The PELAGIE mother-child cohort. *Environ Int* 2015 ; 82 : 69-75.

von Ehrenstein OS, Ling C, Cui X, *et al.* Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: population based case-control study. *BMJ* 2019 ; 364 : l962.

Wagner-Schuman M, Richardson JR, Auinger P, *et al.* Association of pyrethroid pesticide exposure with attention-deficit/hyperactivity disorder in a nationally representative sample of U.S. children. *Environ Health* 2015 ; 14 : 44.

Wang Y, Zhang Y, Ji L, *et al.* Prenatal and postnatal exposure to organophosphate pesticides and childhood neurodevelopment in Shandong, China. *Environ Int* 2017 ; 108 : 119-26.

Watkins DJ, Fortenberry GZ, Sanchez BN, *et al.* Urinary 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA) levels among pregnant women in Mexico City : Distribution and relationships with child neurodevelopment. *Environ Res* 2016 ; 147 : 307-13.

Westerink RHS, Ewing AG. The PC12 cell as model for neurosecretion. *Acta Physiol (Oxf)* 2008 ; 192 : 273-85.

Xiong J, Zhang X, Huang J, *et al.* Fenpropathrin, a widely used pesticide, causes dopaminergic degeneration. *Mol Neurobiol* 2016 ; 53 : 995-1008.

Yang L, Li L. Actions of the pyrethroid insecticide bifenthrin on sodium channels expressed in rat cerebral cortical neurons. *Toxicol Mech Methods* 2015 ; 25 : 63-9.

Yolton K, Xu Y, Sucharew H, *et al.* Impact of low-level gestational exposure to organophosphate pesticides on neurobehavior in early infancy: a prospective study. *Environ Health* 2013 ; 12 : 79.

Yu C-J, Du J-C, Chiou H-C, *et al.* Increased risk of attention-deficit/hyperactivity disorder associated with exposure to organophosphate pesticide in Taiwanese children. *Andrology* 2016 ; 4 : 695-705.

Zhang Y, Han S, Liang D, *et al.* Prenatal exposure to organophosphate pesticides and neurobehavioral development of neonates: a birth cohort study in Shenyang, China. *PLoS One* 2014 ; 9 : e88491.

Zheng J, Yu Y, Feng W, *et al.* Influence of nanomolar deltamethrin on the hallmarks of primary cultured cortical neuronal network and the role of ryanodine receptors. *Environ Health Perspect* 2019 ; 127 : 67003.

4
Troubles cognitifs

Lors de l'expertise collective publiée en 2013 (Inserm, 2013), environ 40 études épidémiologiques avaient été identifiées explorant le lien entre pesticides et cognition, un processus cérébral complexe impliquant notamment la mémoire, l'attention, le jugement, la compréhension et le raisonnement. Les études avaient été catégorisées selon leur schéma méthodologique (études transversales, longitudinales, méta-analyses) et en fonction du caractère aigu ou chronique de l'exposition. Les résultats sont présentés selon ce même schéma avec un résumé des données précédentes et la présentation et l'analyse des nouvelles données publiées depuis 2013, soit 15 publications (tableau 4.I, voir en fin de ce chapitre).

Exposition aiguë aux pesticides : études transversales comparant des personnes intoxiquées (ou fortement exposées) à des personnes non intoxiquées

Trois nouvelles études transversales ont exploré l'association entre des intoxications aiguës aux pesticides et les performances cognitives mesurées à distance de l'exposition aiguë, s'ajoutant aux sept études déjà identifiées sur cette question. Ces études avaient mis en évidence un lien entre une intoxication aux pesticides (majoritairement des organophosphorés) et une baisse des performances cognitives, notamment dans le domaine de l'attention visuelle, la mémoire et l'abstraction. Les trois nouvelles études renforcent les conclusions précédentes.

Une première étude visant à documenter le lien entre des intoxications aiguës aux pesticides et des troubles neurocomportementaux a été menée en Éthiopie, incluant 256 ouvriers dans des contextes agricoles divers (grandes fermes de plein champ, grandes fermes sous serres, et petites fermes intensives) produisant des fleurs, des fruits, des légumes ou du coton (Negatu et coll., 2018). La définition des intoxications aiguës a pris en compte la présence de maladies infectieuses concomitantes dans ce pays, comme le paludisme, pouvant entraîner des manifestations générales ou neurologiques.

Quarante et un travailleurs (soit 16 % de l'échantillon) avaient eu un ou plusieurs épisodes d'intoxication aiguë considérés en lien avec les pesticides. Leur risque de rapporter 4 symptômes ou plus au questionnaire neurocomportemental Q16 utilisé pour l'évaluation cognitive était doublé (OR = 2,15 ; IC 95 % [1,01-4,58]), et le risque était également plus élevé chez les travailleurs présentant une exposition cumulée plus importante, qu'ils aient ou non un antécédent d'intoxication aiguë.

Au sein de l'*Agricultural Health Study* (AHS), une analyse complémentaire a été menée concernant le rôle des épisodes d'exposition accidentelle dans la survenue de troubles cognitifs (Starks et coll., 2012). Pour rappel, dans la précédente expertise, dans un sous-échantillon de cette cohorte, le lien entre les expositions et les déficits neurocomportementaux montrait des incohérences en fonction des tests et des matières actives considérées (Inserm, 2013). Les auteurs montrent un lien entre les épisodes d'exposition accidentelle aux pesticides, sans distinction précise sur les matières actives ou familles chimiques, et une diminution des performances sur certains tests neurocomportementaux (Starks et coll., 2012). Les agriculteurs ayant déclaré avoir eu au moins une fois dans leur vie une forte exposition accidentelle ont pris plus de temps à achever deux tests portant sur l'attention visuelle et la vitesse motrice, et ont obtenu des scores équivalents à ceux de personnes plus âgées de 3,9 ans dans la population étudiée.

En Chine, dans des villages de la province de Jiangsu, 1 490 agriculteurs manipulant des pesticides ont été interrogés sur la survenue, au décours des journées de traitement, de symptômes évoquant une intoxication par des pesticides agricoles (Zhang et coll., 2016). Sur la base de leurs réponses, 121 ont été classés dans le groupe des applicateurs intoxiqués au cours des 12 derniers mois. Quatre-vingts agriculteurs appariés sur leurs caractéristiques sociodémographiques, lieu de résidence et habitudes de vie ont été choisis comme population de référence. Les deux groupes ont été interrogés sur leurs expositions et comparés sur leurs performances à la batterie de tests neurocomportementaux de l'OMS (Organisation mondiale de la santé). Des altérations cognitives ont été mises en évidence chez les agriculteurs intoxiqués (ralentissement des temps de réaction, déficits de mémoire, perte de coordination), ainsi que des troubles de l'humeur (augmentation des sentiments de colère, d'hostilité, de dépression, d'anxiété et de tension ; diminution de l'activité). Ces altérations étaient également observées en lien avec le nombre d'années de travail en agriculture, posant la question de l'implication des expositions chroniques dans les troubles neurocomportementaux observés chez les personnes intoxiquées.

Exposition chronique aux pesticides : études transversales comparant des personnes exposées de manière chronique à des personnes non exposées

La précédente expertise faisait état d'une quinzaine d'études transversales explorant les effets retardés d'expositions chroniques professionnelles aux pesticides et avaient conclu à des altérations des performances aux tests cognitifs chez des sujets exposés professionnellement de manière chronique aux pesticides. Depuis, huit nouvelles études ont été menées.

La première d'entre elles, menée dans un village du sud de l'Iran, a mis en évidence une plus grande fréquence de symptômes (anxiété, insomnie, dépression sévère) et une baisse des performances cognitives, relevés par questionnaire, chez 187 horticulteurs (126 hommes et 61 femmes), en comparaison avec 187 autres travailleurs du même village appariés sur l'âge, le sexe et le niveau d'études. Les travailleurs étaient exposés majoritairement à des organophosphorés, inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. De plus, un effet sur la rapidité psychomotrice, l'attention, la mémoire verbale et non verbale, les fonctions spatiales et les initiatives/l'énergie était suggéré (Malekirad et coll., 2013).

En Arabie Saoudite, une étude a inclus d'une part des applicateurs de pyréthrinoïdes à des fins de démoustication et d'autre part des personnels administratifs appartenant à la même unité de prévention du paludisme. Les performances aux tests neurocomportementaux et la fréquence des symptômes neurologiques ont été comparées entre les deux groupes, et il a été mis en évidence des altérations dans le groupe des travailleurs exposés. Ce résultat présente l'originalité de concerner une population a priori non exposée aux organophosphorés, mais ayant appliqué des pyréthrinoïdes de manière répétée pendant en moyenne 9 années. Les baisses des performances étaient plus marquées pour les fonctions exécutives et les capacités motrices dans les analyses prenant en compte le niveau d'études (Ismail et coll., 2018).

Les troubles cognitifs sont une des caractéristiques du « syndrome de la guerre du Golfe », une maladie multi-symptomatique rapportée par les anciens combattants de ce conflit, dont une des explications pourrait être l'exposition à des agents neurotoxiques, dont certains pesticides. Aux États-Unis, les troubles cognitifs ont été évalués dans une sous-population d'une cohorte de vétérans de la guerre du Golfe regroupant 159 participants avec des niveaux d'exposition aux pesticides variés (en lien avec une diversité d'usages militaires) et qui ont par ailleurs pris du bromure de pyridostigmine, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE) utilisé comme prévention contre les gaz de combat (Sullivan et coll., 2018). Les sujets ont complété des tests

neurocomportementaux et ont été évalués pour le syndrome de stress post-traumatique, la dépression majeure et la « maladie multi-symptomatique chronique »[21]. Les vétérans les plus exposés aux pesticides, en combinaison avec des niveaux faibles ou élevés de pyridostigmine, ont montré des détériorations dans les domaines cognitifs suivants : vitesse de traitement de l'information, attention, mémoire, humeur. Les résultats étaient statistiquement significatifs dans les analyses prenant en compte les pathologies mentionnées ci-dessus comme facteurs de confusion, confirmant que l'exposition aux pesticides contribue de manière indépendante aux troubles des fonctions cognitives et de l'humeur. Certains pesticides ont été plus clairement mis en lien avec les effets, à savoir le dichlorvos dans l'attention et la vitesse de traitement de l'information, le lindane et le méthomyl dans les troubles de l'humeur, le lindane et le bendiocarbe dans les troubles du langage et le diazinon dans les capacités visuo-spatiales.

Une autre étude inclut, en plus des personnes exposées professionnellement, des riverains de zones traitées. Ainsi, au Chili, Corral et coll. comparent les performances cognitives de 32 personnes directement exposées aux pesticides en viticulture et culture d'agrumes d'une part, et de 32 personnes résidant à proximité de zones traitées d'autre part à celles de personnes résidant dans des zones non agricoles (Corral et coll., 2017). Cette étude transversale met en évidence des scores inférieurs aux seuils établis dans la population de référence aussi bien pour les personnes directement exposées que pour les riverains de zones traitées dans les analyses prenant en compte le niveau d'études.

L'étude NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) aux États-Unis a permis d'étudier, dans un sous-échantillon de personnes âgées de 60 à 85 ans en population générale, le lien entre la cognition et l'exposition à certains pesticides (Kim et coll., 2015b). Un test mesurant les fonctions exécutives (*Digit Symbol Substitution Test*) a été administré aux 644 participants et leurs performances sont apparues abaissées pour les niveaux les plus élevés de 6 organochlorés mesurés dans le plasma, en particulier le p,p'-DDT. En revanche, il n'était pas mis en évidence de lien avec la mesure de métabolites urinaires de certains organophosphorés et pyréthrinoïdes. Les auteurs mettent ce résultat en parallèle d'études récentes ayant montré un lien entre les organochlorés plasmatiques et la survenue de démence – voir le chapitre « Maladie d'Alzheimer ». Dans la même étude NHANES, un autre sous-échantillon a été étudié, incluant 700 personnes volontaires âgées

21. Caractérisée par la présence d'un ou plusieurs symptômes pendant au moins 6 mois parmi au moins deux ou trois catégories de symptômes : fatigue, humeur-cognition et troubles musculo-squelettiques.

de 20 à 59 ans, dont la fonction cognitive a été évaluée à l'aide de 3 tests neurocomportementaux (temps de réaction, *Symbol-Digit Substitution*, *Serial Digit Learning)*, et chez qui 12 métabolites urinaires de pesticides ont été mesurés. Ces métabolites dérivaient de plusieurs insecticides, notamment des carbamates, du lindane, d'organophosphorés (parathion, chlorpyrifos), du *para*-dichlorobenzène, du trichlorobenzène... Il n'a pas été mis en évidence de détérioration des performances en lien avec les niveaux des métabolites urinaires, une amélioration était même observée avec le dérivé du *para*-dichlorobenzène et avec le pentachlorophénol (Krieg, Jr., 2013).

En Suède, une analyse portant sur 989 personnes âgées de 70 ans et plus en population générale a étudié le lien entre les concentrations plasmatiques en organochlorés à l'inclusion et la survenue de troubles cognitifs ou de démence. L'étude a de plus considéré la perte de poids de ces personnes âgées, un facteur fortement associé à une élévation des teneurs en organochlorés dans le plasma et également associé à la démence. En prenant en compte le changement de poids, cette étude montre un lien fort entre le niveau d'organochlorés plasmatiques et la survenue de troubles cognitifs : le risque dépassait 11 chez les personnes n'ayant pas perdu de poids et présentant des niveaux élevés d'organochlorés (supérieurs au 75^{e} percentile) (Lee et coll., 2016).

Une étude en Chine a porté sur 7 900 personnes âgées de 50 ans et plus dans deux communautés, l'une urbaine, l'autre rurale. Les participants ont été interrogés en face à face sur un ensemble de facteurs, incluant l'utilisation de pesticides (oui/non), et ont complété le MMSE. Les personnes considérées comme ayant un score bas étaient légèrement plus nombreuses en milieu rural (7,43 % *versus* 6,54 %) mais de manière non significative. En revanche, la proportion de femmes ayant des performances abaissées était plus élevée en milieu rural (8,95 % *versus* 6,82 %, p = 0,01). Déclarer un usage de pesticides était associé au risque de détérioration des performances (OR = 4,68, [1,27-17,21]), mais on ne disposait pas de précision sur ces expositions (Tang et coll., 2016).

Exposition aiguë ou chronique aux pesticides : études de suivi avant/après et études de cohortes

La dimension longitudinale des expositions aux pesticides dans la survenue des troubles cognitifs a été moins étudiée. Pourtant ces données seraient importantes à analyser si on considère que l'apparition de troubles cognitifs serait prédictive de la survenue de certaines démences. Quatre études

prospectives avaient été décrites dans la précédente expertise, trois d'entre elles mettaient en évidence des dégradations des performances cognitives au cours du temps chez les personnes exposées aux pesticides mais les résultats n'étaient pas concordants. Quatre nouvelles études ont été publiées dont une issue d'une cohorte apparaissant dans l'expertise précédente (PHYTONER en France).

La cohorte française PHYTONER a complété son analyse précédente en estimant de manière détaillée l'exposition des travailleurs viticoles aux organophosphorés sur 4 années de suivi (Blanc-Lapierre et coll., 2013). Pour les 614 personnes du premier suivi de cette cohorte, un index cumulé d'exposition aux 34 organophosphorés ayant été autorisés en viticulture en France a été calculé à l'aide de la matrice culture exposition PESTIMAT et d'algorithmes basés sur des études de terrain (PESTEXPO), incluant des caractéristiques des travailleurs, des exploitations, des tâches (y compris la réentrée), des cultures, des équipements de protection et du matériel. Ces indicateurs ont été mis en lien avec les résultats à 9 tests neurocomportementaux. Les scores cumulés d'exposition aux organophosphorés ont été montrés associés aux performances cognitives, en particulier à la mémoire de travail et la vitesse de traitement de l'information mais sans montrer une relation dose-effet. Le lien le plus fort était observé avec le mévinphos. Par ailleurs, le déclin des performances au *Mini-Mental State Examination* (MMSE) entre l'inclusion et le suivi à 4 ans apparaissait plus net chez les personnes exposées.

En Californie, la cohorte prospective SALSA (*Sacramento Area Latino Study on Aging*) sur le vieillissement des Latino-Américains résidant dans la vallée de Sacramento, a utilisé le système californien d'enregistrement des utilisations de pesticides agricoles pour rechercher un lien entre le déclin cognitif et l'exposition aux pesticides (Paul et coll., 2018). Quatre cent trente personnes de 60 ans et plus à l'inclusion, riveraines de zones traitées, ont été incluses dans les analyses. Elles ont été suivies tous les 12 à 15 mois entre 1998 et 2007 avec la passation du MMSE modifié et, pour un sous-échantillon, une batterie de tests neurocomportementaux, un avis clinique spécialisé sur l'état de la cognition (normale, légèrement altérée, ou démence), et le cas échéant une analyse des causes de décès. Par ailleurs, divers biomarqueurs métaboliques et de l'inflammation ont été mesurés. Plus de 200 participants vivaient à moins de 500 m d'une zone traitée par un des 24 organophosphorés enregistrés par le système californien, et 50 ont été considérés comme très exposés avec un nombre moyen de 6 organophosphorés appliqués près de leur zone de résidence. Les auteurs ont mis en évidence un déclin au MMSE chez les personnes très exposées aux

organophosphorés, et une survenue plus précoce de la démence et du décès. Par ailleurs, les expositions aux organophosphorés apparaissaient associées au niveau d'adiponectine, suggérant un possible dysfonctionnement métabolique en lien avec les organophosphorés.

En Grèce, la cohorte HELIAD a été mise en place en 2011 afin de suivre la fonction cognitive au cours du temps chez des personnes âgées à l'inclusion de 65 ans et plus (Dardiotis et coll., 2019). Divers tests neurocomportementaux ont été administrés aux participants afin d'apprécier notamment l'orientation (MMSE), la mémoire verbale et non verbale, divers domaines du langage, les capacités de visuo-perception, l'attention, la rapidité d'exécution, les capacités motrices... Le diagnostic de démence reposait sur des critères internationaux et conduisait à une exclusion des présentes analyses. En plus de nombreux facteurs potentiellement associés aux troubles cognitifs, l'histoire professionnelle était recueillie ainsi que les divers usages de pesticides rapportés par les participants, afin de catégoriser en oui/non : *i*) la résidence dans une zone de traitements pesticides, en précisant si cette résidence avait ou non duré plus de 20 ans, *ii*) l'application de pesticides dans le jardin, et *iii*) l'application professionnelle sur des champs. À partir des données de 1 397 participants, une baisse des performances cognitives – à l'exception de la mémoire – (fonctions exécutives, perception visuo-spatiale, domaines du langage et de l'attention) était mise en évidence chez les personnes vivant à proximité de champs traités, même après exclusion des personnes exposées aux pesticides professionnellement ou par le jardinage. Il n'était pas mis en évidence de lien entre la cognition et l'usage de pesticides dans le jardin ou les traitements pesticides agricoles (mais ces deux catégories d'exposition étaient moins représentées).

Une quatrième analyse prospective mérite d'être décrite, bien qu'il convienne de mentionner les conflits d'intérêts entre les auteurs et la firme *Dow Chemicals* qui a subventionné l'étude (Berent et coll., 2014). Berent et coll. ont mené une étude prospective sur une année incluant 53 ouvriers de l'industrie de production du chlorpyrifos et 60 ouvriers d'une entreprise de production de film alimentaire plastique, tous soumis à des tests neurocomportementaux validés. Les auteurs n'observaient pas d'effet des expositions au chlorpyrifos sur les capacités cognitives sur cette courte durée de suivi.

Exposition chronique aux pesticides : revues de la littérature

Dans l'expertise collective précédente, quatre revues et une méta-analyse avaient été identifiées concernant les effets sur la cognition des expositions chroniques aux pesticides et concluaient à un effet délétère des expositions

aux pesticides sur le fonctionnement cognitif, de manière plus claire en présence d'intoxication aiguë. Les altérations observées concernaient un éventail large de fonctions neurologiques centrales. La méta-analyse rassemblant la majorité des études de cohortes (applicateurs et agriculteurs) confirmait une augmentation significative de certains déficits cognitifs (attention, capacités visuo-motrices, abstraction verbale, perception) chez les agriculteurs après une exposition chronique aux pesticides. Une seule ne portait pas spécifiquement sur les organophosphorés (Kamel et Hoppin, 2004). Une nouvelle revue et deux méta-analyses ont été publiées depuis 2012.

Une revue fait de nouveau le point sur la question des troubles cognitifs en lien avec les expositions chroniques aux organophosphorés, en se centrant sur la population agricole (Munoz-Quezada et coll., 2016). Trente-trois articles publiés entre 1975 et 2014 ont été retenus et parmi eux 24 ont été considérés comme de qualité intermédiaire à haute sur la base d'un score prenant en compte le schéma d'étude, la taille de l'échantillon, la mesure de l'exposition, la mesure de l'effet et le contrôle de facteurs de confusion, et attribué par consensus entre 6 des co-auteurs. Sept types d'effets ont été considérés : la mémoire, les compétences motrices, la rapidité de traitement de l'information, les capacités verbales, l'intelligence, l'atteinte cognitive mesurée par le MMSE, les changements morphologiques du cerveau. Seulement 9 articles n'ont pas observé de lien entre les organophosphorés et les performances cognitives (contre 24 observant un lien). Les auteurs soulignent le grand nombre d'études ayant mis en évidence un lien entre une baisse des performances neuropsychologiques et l'exposition chronique aux organophosphorés chez les agriculteurs, mais remarquent que peu d'études ont utilisé des biomarqueurs d'exposition et que les études, utilisant des tests très variés, n'ont pas toutes évalué les mêmes domaines cognitifs.

Mackenzie-Ross et coll. ont réalisé en 2013 une revue systématique et méta-analyse des études épidémiologiques publiées entre 1960 et 2012 sur la neurotoxicité à long terme des expositions professionnelles à de faibles niveaux d'organophosphorés. Les études portant sur les effets différés d'intoxications aiguës ont été exclues, de même que celles portant sur les enfants et le neurodéveloppement, celles ne disposant pas d'un groupe contrôle et celles qui n'étaient pas fondées sur des tests psychométriques. Seulement 16 études ont été retenues par les auteurs sur les 45 initialement identifiées et 13 d'entre elles ont pu être incluses dans la méta-analyse (Mackenzie Ross et coll., 2013). À noter qu'une autre méta-analyse portant sur les effets des organophosphorés a été publiée la même année par Ismail et coll., mais seulement 7 articles ont été retenus en commun entre ces deux publications (Ismail et coll., 2012). Les conclusions sont néanmoins convergentes, soulignant une association significative entre

l'exposition chronique aux organophosphorés et les performances cognitives, et plus spécifiquement un effet sur la mémoire de travail et l'attention, la vitesse psychomotrice, les fonctions exécutives, et les capacités visuo-spatiales.

Une autre méta-analyse menée par Meyer-Baron et coll. sur les articles publiés jusqu'en 2012, cherchait à analyser la relation dose-effet entre les expositions chroniques aux organophosphorés et les performances cognitives, en considérant les durées d'exposition, et en s'interrogeant sur l'existence de sous-groupes sensibles (Meyer-Baron et coll., 2015). Les études retenues devaient être épidémiologiques, avoir étudié au moins un organophosphoré, explorer des effets chroniques, avoir un groupe de référence, avoir utilisé un test neuropsychologique utilisé par au moins deux autres études, rapporter les moyennes et déviations standard des résultats aux tests dans les deux groupes et être publiées en français, anglais ou allemand. Vingt-deux études ont été retenues entre 1965 et 2010, fournissant 32 résultats pour 1 758 sujets exposés et 1 260 référents, et concernaient 26 tests. Au total, les analyses ont confirmé que les études montraient un abaissement des performances cognitives et motrices chez les personnes exposées aux organophosphorés, plus cohérentes dans le domaine de la mémoire et de l'attention. Une relation durée-effet était mise en évidence dans les analyses réalisées au niveau agrégé aussi bien que dans celles réalisées au niveau de l'individu. Sur la base des données disponibles, il n'était pas possible de conclure sur les risques chez les femmes et chez les adolescents.

Conclusion

À la quarantaine d'études identifiées lors de la précédente expertise collective, une quinzaine d'études originales sont venues s'ajouter depuis 2013, ainsi que trois travaux de synthèse. Ces nouvelles études restent majoritairement transversales et comparent les fonctions cognitives de personnes intoxiquées par des pesticides ou ayant été exposées de manière prolongée au cours de leur parcours professionnel à celles de personnes non exposées. La plupart identifient des liens entre les expositions aux pesticides et les détériorations cognitives. Dans ces études récentes, les pesticides les plus étudiés sont toujours les organophosphorés, mais d'autres molécules ont été explorées comme les pyréthrinoïdes ou les organochlorés, qui se sont également avérées associées à une atteinte des performances cognitives. De plus, au cours des dernières années, les études se sont élargies à des populations a priori moins exposées que les agriculteurs, comme les riverains de zones agricoles ou la population générale, notamment au travers de l'étude NHANES aux États-Unis. Un effet sur les performances cognitives a également été mis en évidence de manière concordante dans ces populations.

Tableau 4.I : Exposition aux pesticides et troubles cognitifs

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la pathologie	Paramètres d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Discussion
Exposition aiguë aux pesticides : études transversales						
Negatu et coll., 2018 Éthiopie	256 hommes ayant appliqué les pesticides au moins au cours des 12 derniers mois dans 3 systèmes agricoles, identifiés à partir d'une liste de coopératives syndicales Petites fermes intensives (n = 5), grandes fermes sous serres (n = 9 dans 2 zones), grande ferme de plein champ (n = 1)	Questionnaire neurocomportemental Q16 (fatigue, mémoire, palpitations, concentration...) Score dichotomisé en fonction de la médiane (4 symptômes) Intoxication : exposition et ≥ 3 symptômes dans les 48 h, en l'absence de maladie chronique (infectieuse notamment) avec arrêt de travail	Production de fleurs, fruits, légumes, coton Durée d'emploi de 3,1 ans chez les sujets intoxiqués et 4,5 chez les non intoxiqués Même exposition journalière dans les deux groupes mais exposition annuelle plus élevée chez les intoxiqués et tendance à une exposition cumulée plus élevée	Score dérivé de l'algorithme de l'AHS : intensité, EPI, fréquence et durée des applications pour estimer les expositions quotidiennes et annuelles et une exposition cumulée	Consommation de khat, âge, durée d'emploi, niveau d'études, tabagisme, alcool	41/256 applicateurs intoxiqués (16 %), parmi lesquels 32 % travaillaient sous serre avec des épisodes multiples Intoxication attribuée une fois sur deux au profénofos (un OP), puis endosulfan et morpholine Davantage d'applicateurs ayant présenté ≥ 4 symptômes chez les intoxiqués (63,4 % *versus* 43,7 %, p = 0,02) Risque d'avoir ≥ 4 symptômes si intoxication OR = 2,15 [1,01-4,58]
Starks et coll., 2012 États-Unis (Iowa et Caroline du Nord)	*Agricultural Health Study* Applicateurs de pesticides hommes résidant à moins de 150 miles d'un centre où les tests étaient réalisés (n = 693) Exclusion si antécédent d'intoxication aiguë, AVC, SLA, Parkinson, dégénérescence maculaire, hypothyroïdie, diabète, sclérose multiple, alcool > 41 verres/sem. Sur-représentation des utilisateurs d'OP	8 tests neurocomportementaux de la batterie *Neurobehavioral Evaluation System* (informatisé) et un test manuel (pour la dextérité et la coordination motrice fine)	~ 23 % des sujets ont déclaré avoir eu au moins une forte exposition accidentelle	Définition d'évènements fortement exposants : incidents ou situations ayant conduit à une exposition individuelle aux pesticides inhabituellement élevée au cours de la vie professionnelle (avec ou sans prise en charge médicale) Événements rapportés aux 3 phases de l'étude	Âge, taille, niveau d'études, état de résidence, alcool, tabac, caféine, trauma crânien, antidépresseurs, autres neurotoxiques, EPI, exposition cumulée aux pesticides, acuité visuelle, test de lecture	Lien entre les expositions accidentelles et 2 des 9 tests : DSST (attention visuelle) et la Séquence A (attention visuelle et vitesse motrice)

Tableau 4.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la pathologie	Paramètres d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Discussion
Zhang et coll., 2016 Chine (province de Jiangsu)	Participants : ≥ 18 ans ayant utilisé des pesticides agricoles dans les 12 derniers mois en 2009-11 (n = 1 490) Exclusion : SLA, Parkinson, dégénérescence maculaire, prise de médicaments SNC 121 sujets intoxiqués par un pesticide (exclusion des intoxications volontaires et professionnelles non agricoles) 80 sujets non intoxiqués, appariés sur lieu de résidence, sexe, âge, niveau d'études, années de travail, tabagisme, alcool, et condition physique générale	*Neurobehavioral Core Test Battery* de l'OMS	~ 33 années de travail en agriculture pour les 2 groupes Les insecticides sont les plus utilisés (84 %)	Questionnaire sur 66 symptômes d'intoxication par pesticides. Intoxication si ≥ 2 symptômes dans les 24 h après traitement		Déficits neurocomportementaux dans plusieurs domaines chez les sujets intoxiqués : troubles de l'humeur, vitesse de réaction, mémoire court terme et coordination Déficits également identifiés en lien avec le nombre d'années de travail en agriculture

Tableau 4.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la pathologie	Paramètres d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Discussion
Exposition chronique aux pesticides : études transversales						
Corral et coll., 2017 Chili (Coquimbo)	Étude pilote sur volontaires (hommes et femmes, 18 à 55 ans). Exclusion si alcool, drogue, maladie psy, trouble ou traitement neurologique, gauchers Exposition directe : travailleurs agricoles utilisant des OP ou tâches au contact des cultures pendant ≥ 3 ans (n = 32) Exposition indirecte : riverains de zones traitées mêmes zones pendant ≥ 3 ans (n = 32), exerçant métiers manuels (construction, services) Non exposés : résidence hors zones agricoles n = 38	7 tests administrés par la même neuropsychologue : test global (MMSE), mémoire, attention, capacités visuelles, fonctions exécutives Proportion de personnes en dessous du seuil établi pour chaque test par rapport à la référence des personnes non exposées	Région de viticulture et culture d'agrumes Chlorpyrifos utilisé par ~ 50 % des travailleurs agricoles Exposition directe : en moyenne 14 ans Exposition indirecte en moyenne 16 ans	Questionnaire sur les expositions Pas de mesure biologique	Âge, sexe (% de femmes plus élevé dans l'exposition indirecte), niveau d'études	Expositions les plus élevées sont associées à des baisses de performances pour pratiquement tous les tests : atteinte des fonctions exécutives, de la fluidité verbale, et des mémoires visuelle et auditive Effet également observé pour ces mêmes fonctions dans le groupe indirectement exposé
Ismail et coll., 2018 Arabie Saoudite (Région Jazan)	Unité de prévention du paludisme chargée de la démoustication (mars-août 2015) Hommes, 18 à 60 ans, sachant lire et écrire Exclusion si antécédents neurologiques Exposés : 30 applicateurs Non exposés : 32 personnels administratifs	Batterie de tests neurocomportementaux explorant la mémoire, mémoire court terme, l'attention, fonctions exécutives, vitesse motrice et coordination Questions sur des symptômes neurologiques : O/N et fréquence	Utilisation de Pyr de type II (γ-cyhalothrine, deltaméthrine) à l'intérieur des logements, de larvicides (diflubenzuron, méthoprène, pyriproxyfène) dans les zones de reproduction des insectes, et de Pyr de type I (bifenthrine, bioalléthrine) ou II (cyphénothrine) dans les zones extérieures Expérience d'application : 8 ans en moyenne. 5 jours par semaine et 6 heures par jour	Mesure de la BuChE sanguine : peu de différence entre les deux groupes	Prise en compte du niveau d'études et la consommation de khat (33 % des personnes de cette région en mâchent)	Symptômes neurologiques plus fréquents chez les applicateurs (vertiges, tremblements, perte d'appétit...) Performances abaissées à 6 tests pour les applicateurs, en particulier pour les fonctions exécutives et la vitesse motrice

Tableau 4.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la pathologie	Paramètres d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Discussion
Kim et coll., 2015a et Kim et coll., 2015b* États-Unis	Sous-échantillon de l'étude NHANES ; personnes de 60 à 85 ans entre 1999 et 2004 (n = 633)	Test cognitif DSST (explore les capacités visuo-spatiales et la vitesse motrice, met en jeu les fonctions exécutives)		Mesure des OC sériques suivants : p,p'-DDT ; p,p'-DDE, *trans*-nonachlore, oxychlordane ; heptachlore époxyde, β-HCH Rapportés aux lipides sanguins Dosage urinaire de 5 métabolites d'OP et 1 métabolite de Pyr	Âge, sexe, race/ethnie Niveau de PCB	Lien entre les performances aux scores et le niveau d'OC, plus marqué pour le p,p'-DDT (baisse de 9 points au score dans le dernier quartile et risque multiplié par 6,5 au-delà du 95e percentile) Pas de lien clair avec les pesticides non persistants (OP et Pyr)
Krieg, Jr., 2013 États-Unis	Sous-échantillon de l'étude de biosurveillance NHANES : personnes de 20 à 59 ans (n = 700)	Test de réaction simple, *Symbol-Digit Substitution*, *Serial Digit Learning*		Dosage urinaire de 12 métabolites de carbamates, lindane, organophosphorés, *para*-dichlorobenzène...	Pas d'ajustement	Pas de lien de manière générale Amélioration des performances avec des métabolites du *para*-dichlorobenzène (2,4- et 2,5-dichlorophénol) et le pentachlorophénol (dérivé du lindane)
Lee et coll., 2016 Suède (Uppsala)	Personnes âgées de 70 ans et plus en population générale (n = 989) Inclusion 2001-04 Suivi à 75 puis 80 ans 75 cas incidents de trouble cognitif ou de démence dont 44 sur la période de suivi où le poids a été contrôlé (entre 75 et 80 ans)	Diagnostic de troubles cognitifs, depuis des troubles légers jusqu'à la démence réalisé par une équipe spécialisée		Dosage sérique de 5 OC à l'inclusion : p,p'-DDE, *trans*-nonachlore, hexachlorobenzène et *trans*- et *cis*-chlordane (les chlordanes, détectés chez < 10 % des sujets, non retenus dans les analyses) Score global OC basé sur des classes de distribution pour les composés PCB mesurés	Sexe, niveau d'études, tabagisme, exercice physique, alcool, IMC, diabète, hypertension. cholestérol, triglycérides	Risque de troubles cognitifs chez les plus exposés (> 75e percentile) stratifié par changement de poids : Poids stables : HR = 8,7 [1,0-77,6] ; poids stables ou gains : HR = 11,6 [1,4-92,6] ; perte de poids : pas d'association Une association persiste entre OC et troubles cognitifs chez les plus exposés n'ayant pas perdu de poids.

Tableau 4.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la pathologie	Paramètres d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Discussion
Malekirad et coll., 2013 Iran (Sud-Ouest)	Exposés : 187 horticulteurs (16 à 80 ans) Non exposés : 187 personnes ne travaillant pas en agriculture, résidant dans le même village et appariées sur âge, sexe et niveau d'étude Exclusion des sujets avec maladie chronique, traitement médicamenteux, radiothérapie, alcool, drogues, compléments anti-oxydants, expositions à d'autres produits toxiques	Mesure de la cognition avec le *Subjective Neurocognition Inventory* (version iranienne) et de la santé mentale avec le *General Health Questionnaire*-28		Prélèvements sanguins hebdomadaires pour glucose, nitro-urée, cholestérol, triglycérides, créatinine, HDL, ASAT, ALAT, phosphatase alcaline		Fréquences de l'anxiété, de l'insomnie et de la dépression sévère plus élevée chez les exposés. De plus, rapidité psychomotrice, attention, mémoire verbale et non verbale, fonctions spatiales et initiative/énergie abaissées chez les travailleurs exposés Perturbations métaboliques (en particulier du glucose) également observées
Sullivan et coll., 2018 États-Unis	Sous-population d'une cohorte de vétérans / guerre du Golfe Personnels de médecine préventive ou applicateurs de pesticides ayant complété le questionnaire en 1997-8 sur les usages de pesticides pendant la guerre (n = 159) Exclusion si alcoolisme, drogue, trauma crânien, maladies neurologiques empêchant l'usage d'un ordinateur	Tests neuro psychologiques (en aveugle) : intelligence générale, langage, capacités attentionnelles fonctions exécutives, fonctions psychomotrices, facultés visuo-spatiales, mémoire court terme, humeur Transformation des résultats aux tests en Z-scores et sommes par domaine Mesure des troubles psychiatriques par le DSM-IV et CAPS	Usage de pesticides répulsifs sur la peau et l'uniforme, pièges et appâts, et antiparasitaires sur soi ou sur les prisonniers : DEET (formulation à 75 %) ; OP : dichlorvos, malathion, diazinon, azaméthiphos, chlorpyrifos ; C : méthomyl, propoxur, bendiocarbe ; OC : lindane ; Pyr : perméthrine, d-phénothrine	4 groupes d'exposition en croisant exposition haute ou basse aux pesticides et haute ou basse au pyridostigmine (prévention armes chimiques) Exposition élevée aux pesticides : signes d'intoxication, application ≥ 2 fois (avec ou sans EPI), présence lors d'applications (≥ 2 fois), au moins une semaine dans des locaux traités, s'être traité avec du DEET ≥ 30 fois Exposition élevée à la pyridostigmine : ≥ 6 comprimés ou symptômes lors de la prise	Âge, sexe, niveau d'études Stress post-traumatique Maladie chronique multi-symptomatique Dépression majeure	Forte exposition aux pesticides et pyridostigmine associée à des déficits dans 4 domaines cognitifs : vitesse de traitement de l'information, humeur, attention, mémoire Associations les plus marquées : Attention et vitesse de traitement de l'information (dichlorvos), troubles d'humeur (lindane et méthomyl), langage (bendiocarbe et lindane), capacités visuo-spatiales (diazinon)

Tableau 4.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la pathologie	Paramètres d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Discussion
Tang et coll., 2016 Chine	Personnes ≥ 50 ans dans deux communautés Malu (rurale) et Wuliiqiao (urbaine) n = 7 900	Entretien en face à face MMSE		Réponses au questionnaire : usage de pesticides oui/non	IMC Niveau d'études, sexe, âge, métier, statut marital, alimentation, tabac, alcool, ATCD personnels et familiaux, médicaments...	Pas de différence globalement Plus de femmes avec atteinte cognitive en milieu rural Lien entre l'atteinte cognitive et une histoire d'utilisation de pesticides OR = 4,68 [1,27-17,21]
Exposition chronique aux pesticides : études longitudinales						
Berent et coll., 2014 États-Unis (Michigan)	Ouvriers 18 à 65 ans sachant lire, pas de trauma crânien avec perte de connaissance > 20 min, pas de conflit avec Dow, pas de difficulté pour appliquer le protocole. Participation contre rémunération Exposés : ouvriers d'une usine de production de chlorpyrifos (n = 53) Non exposés : ouvriers d'une usine de fabrication de film plastique alimentaire tirés au sort (n = 60) Inclusion et suivi à 1 an	Examen clinique et interrogatoire sur des troubles neurologiques, dans le passé, à l'inclusion et au suivi à 1 an Évaluation cognitive par un neuropsychologue : test de vision des couleurs, test de Folstein (*mental status measure*), *Word memory test*. Batteries de tests informatisées (CANTAB, CogniSyst) Score pour chaque domaine de cognition (T-score) Estimation de la consommation d'alcool	Durée moyenne d'exposition professionnelle au chlorpyrifos : 9,7 ans (0,1 an chez les non exposés) TCPy : exposés : 192,1, non exposés : 6,2 µg/g créatinine (p < 0,001) BuChE min : exposés 0,75, non exposés 0,88 (p < 0,001)	Estimation de l'exposition cumulée au chlorpyrifos depuis le début de l'emploi, basée sur des prélèvements d'air historiques à différents postes de travail Mesure moyennée de l'excrétion urinaire TCPy au cours de l'année de suivi (4 nuits) rapportée à la créatinine Mesure de BuChE mensuelle et AChE à l'inclusion et au suivi	Âge, sexe, niveau d'études, fatigue au moment du test, capacités générales, motivation, alcool, stress (professionnel, familial, financier, santé et social)	Résultats meilleurs chez les exposés à l'inclusion pour la mémoire verbale (p < 0,01) Pas d'effet lié au temps entre l'inclusion et le suivi : amélioration des performances dans les 2 groupes Niveau d'études légèrement plus élevé dans le groupe exposé Les auteurs mentionnent de nombreux conflits d'intérêts avec la firme Dow. L'étude a été financée par la firme.

Tableau 4.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la pathologie	Paramètres d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Discussion
Blanc-Lapierre et coll., 2013 France	Étude PHYTONER Affiliés ≥ 20 ans à la MSA, âgés de 40 à 55 ans à l'inclusion, employés ≥ 1 000 h/an, exposés aux pesticides (directement ou indirectement) et non exposés (n = 917) à l'inclusion et n = 650 au suivi Inclusion en 1997-98 1er suivi en 2002-03 2e suivi en 2010-11 Analyses sur 614 personnes du 1er suivi	9 tests neurocomportementaux administrés par une neuropsychologue : échelle globale de cognition (MMSE), mémoire visuelle, vitesse de traitement de l'information, mémoire épisodique, inhibition Dichotomisation des résultats en considérant les 25 % des valeurs les plus basses comme abaissées Analyse de l'évolution des performances à l'inclusion et au suivi	Non exposées (n = 171) Exposées (n = 443) : 336 à au moins un OP (traitement et/ou ré-entrée) 59 ayant eu une intoxication Durée moyenne d'exposition : 31 ans 11 OP avec des expositions non négligeables dans la cohorte : azinphos, chlorpyrifos, déméton, diéthion, fénitrothion, malathion, méthidathion, mévinphos, parathion, phosalone et quinalphos	Estimation des expositions à 34 OP à l'aide de la matrice culture-exposition PESTIMAT Niveaux d'exposition : calcul avec un algorithme basé sur les caractéristiques du travailleur, de l'exploitation, des tâches réalisées, des EPI et du matériel (PESTEXPO) Estimation de l'exposition en ré-entrée : contact pendant 2 jours avec les vignes Score global : exposition directe et indirecte sur la période 1950-2003	Niveau d'études, sexe, âge, alcool	Score cumulé d'exposition aux OP associé à l'abaissement des performances cognitives, en particulier pour la mémoire de travail et la vitesse de traitement. Lien le plus fort avec le mévinphos Déclin au cours du temps plus marqué pour le MMSE chez les personnes exposées
Dardiotis et coll., 2019 Grèce	Étude HELIAD Personnes ≥ 65 ans à l'inclusion en 2011 tirées au sort sur des listes municipales n = 1 397 participants inclus dans les analyses	Tests neurocomportementaux administrés par des neuropsychologues, évaluant l'orientation (MMSE), la mémoire, le domaine du langage, la motricité Transformation en Z-score et définition de quartiles Exclusion de démences	227 (16 %) ont résidé près de champs traités. 141 (10 %) ont traité leur jardin. 166 (12 %) ont traité professionnellement.	Auto-déclaration de l'exposition par les participants : résidence dans une zone traitée (moins ou plus de 20 ans), Usages professionnels sur les cultures. Usages dans des activités de jardinage Recueil de l'histoire professionnelle	Niveau d'études, âge, sexe, hypertension, diabète, maladie cardiaque, statut socio-économique, activité physique	Abaissement des performances cognitives chez ceux qui ont résidé près de champs traités, significatif dans le domaine du langage (pas d'atteinte de la mémoire), même en excluant ceux qui ont appliqué professionnellement des pesticides et/ou jardiné

Tableau 4.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la pathologie	Paramètres d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Discussion
Paul et coll., 2018 États-Unis (Californie)	Étude SALSA sur le vieillissement des Américains d'origine mexicaine de la vallée Sacramento Inclusion en 1998-99 de Latino-Américains ≥ 60 ans (n = 1 789) Suivi tous les 12 à 15 mois jusqu'en 2007 Analyse restreinte aux riverains de zones agricoles, non dément à l'inclusion et ayant eu au moins une évaluation neurocomportementale (n = 430)	MMSE modifié Dans un sous-échantillon : batterie SENAS avec des tests de mémoire sémantique verbale et non verbale, attention verbale, abstraction verbale, capacité visuo-perceptive Avis d'un neurologue ou neuropsychologue : cognition normale, limitée mais sans démence, démence (vasculaire ou Alzheimer) Analyse des causes de décès (135 patients) Mesure de différents marqueurs d'effet : IL6, TNFα, adiponectine, homocystéine, leptine...	20 % ont travaillé en agriculture au cours de leur vie 223 participants vivent à moins de 500 m d'une zone traitée par au moins un des 24 OP, dont 111 au-dessus de la médiane d'au moins l'un d'entre eux et 50 considérés comme très exposés avec un nombre moyen de 6 substances OP	Système californien d'enregistrement des pesticides Utilisation d'un SIG pour expositions à l'adresse de résidence Calcul des expositions à 24 OP, jusqu'à 5 années avant l'inclusion (94 % résidaient à la même adresse) : quantité dans un rayon de 500 m autour de l'adresse Dichotomisation par rapport à la médiane pour chaque substance Décompte du nombre de pesticides au-dessus de la médiane dans la zone de résidence. Même décompte pour les pesticides non OP.	Âge, sexe, diabète, métier agricole ou non, niveau d'études, résidence urbaine ou rurale, IMC	Déclin au MMSE était associé avec la résidence à proximité de zones fortement traitées par des OP, de même que le temps de survenue de la démence (n = 41) et le décès Niveaux d'exposition aux OP associés à un biomarqueur métabolique (adiponectine), mais pas aux marqueurs de l'inflammation

* : deux articles publiés dans des revues différentes mais qui rapportent des résultats similaires ; AChE : acétylcholinestérase ; ALAT : alanine aminotransférase ; ASAT : aspartate aminotransférase ; β-HCH : isomère β du héxachlorocyclohexane ; BuChE : butyrylcholinestérase ; C : Carbamates ; CAPS : *clinician-administered post-traumatic stress disorder scale* ; DSM-IV : *diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th edition* ; DSST : *digit symbol substitution test* ; EPI : équipement de protection individuel ; IMC : Indice de masse corporelle ; MMSE : *Mini-Mental State Examination* ; NHANES : *National Health and Nutrition Examination Survey* ; OC : organochloré ; OP : organophosphoré ; Pyr : Pyréthrinoïdes ; SENAS : *Spanish English Neuropsychological Assessment Scales* ; SIG : système d'information géographique ; SLA : sclérose latérale amyotrophique ; TCPγ : 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, métabolite chlorpyrifos et du chlorpyrifos-méthyl. Les intervalles de confiance donnés entre parenthèses sont les intervalles de 95 %, sauf si indiqué différemment

Références

• Étude financée par un industriel des phytosanitaires

Berent S, Giordani B, Albers JW, *et al*. Effects of occupational exposure to chlorpyrifos on neuropsychological function: a prospective longitudinal study. *Neurotoxicology* 2014 ; 41 : 44-53. •

Blanc-Lapierre A, Bouvier G, Gruber A, *et al*. Cognitive disorders and occupational exposure to organophosphates: results from the PHYTONER study. *Am J Epidemiol* 2013 ; 177 : 1086-96.

Corral SA, Angel V de, Salas N, *et al*. Cognitive impairment in agricultural workers and nearby residents exposed to pesticides in the Coquimbo Region of Chile. *Neurotoxicol Teratol* 2017 ; 62 : 13-9.

Dardiotis E, Siokas V, Moza S, *et al*. Pesticide exposure and cognitive function: Results from the Hellenic Longitudinal Investigation of Aging and Diet (HELIAD). *Environ Res* 2019 ; 177 : 108632.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1 001 p.

Ismail AA, Almalki M, Agag A, *et al*. Pesticide application and khat chewing as predictors of the neurological health outcomes among pesticide applicators in a vector control unit, Saudi Arabia. *Int J Occup Environ Med* 2018 ; 9 : 32-44.

Ismail AA, Bodner TE, Rohlman DS. Neurobehavioral performance among agricultural workers and pesticide applicators: a meta-analytic study. *Occup Environ Med* 2012 ; 69 : 457-64.

Kamel F, Hoppin JA. Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 950-8.

Kim K-S, Lee Y-M, Lee H-W, *et al*. Associations between organochlorine pesticides and cognition in U.S. elders : National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Environ Int* 2015a ; 75 : 87-92.

Kim S-A, Lee Y-M, Lee H-W, *et al*. Greater cognitive decline with aging among elders with high serum concentrations of organochlorine pesticides. *PLoS One* 2015b ; 10 : e0130623.

Krieg EF, Jr. The relationships between pesticide metabolites and neurobehavioral test performance in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Environ Occup Health* 2013 ; 68 : 39-46.

Lee D-H, Lind PM, Jacobs DR, JR, *et al*. Association between background exposure to organochlorine pesticides and the risk of cognitive impairment: A prospective study that accounts for weight change. *Environ Int* 2016 ; 89-90 : 179-84.

Mackenzie Ross S, McManus IC, Harrison V, *et al*. Neurobehavioral problems following low-level exposure to organophosphate pesticides: a systematic and meta-analytic review. *Crit Rev Toxicol* 2013 ; 43 : 21-44.

Malekirad AA, Faghih M, Mirabdollahi M, *et al*. Neurocognitive, mental health, and glucose disorders in farmers exposed to organophosphorus pesticides. *Arh Hig Rada Toksikol* 2013 ; 64 : 1-8.

Meyer-Baron M, Knapp G, Schaper M, *et al*. Meta-analysis on occupational exposure to pesticides--neurobehavioral impact and dose-response relationships. *Environ Res* 2015 ; 136 : 234-45.

Munoz-Quezada MT, Lucero BA, Iglesias VP, *et al*. Chronic exposure to organophosphate (OP) pesticides and neuropsychological functioning in farm workers: a review. *Int J Occup Environ Health* 2016 ; 22 : 68-79.

Negatu B, Vermeulen R, Mekonnen Y, *et al*. Neurobehavioural symptoms and acute pesticide poisoning: a cross-sectional study among male pesticide applicators selected from three commercial farming systems in Ethiopia. *Occup Environ Med* 2018 ; 75 : 283-9.

Paul KC, Ling C, Lee A, *et al*. Cognitive decline, mortality, and organophosphorus exposure in aging Mexican Americans. *Environ Res* 2018 ; 160 : 132-9.

Starks SE, Gerr F, Kamel F, *et al*. High pesticide exposure events and central nervous system function among pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Int Arch Occup Environ Health* 2012 ; 85 : 505-15.

Sullivan K, Krengel M, Bradford W, *et al*. Neuropsychological functioning in military pesticide applicators from the Gulf War: Effects on information processing speed, attention and visual memory. *Neurotoxicol Teratol* 2018 ; 65 : 1-13.

Tang H-D, Zhou Y, Gao X, *et al*. Prevalence and risk factor of cognitive impairment were different between urban and rural population: a community-based study. *J Alzheimers Dis* 2016 ; 49 : 917-25.

Zhang X, Wu M, Yao H, *et al*. Pesticide poisoning and neurobehavioral function among farm workers in Jiangsu, People's Republic of China. *Cortex* 2016 ; 74 : 396-404.

5
Troubles anxio-dépressifs

La dépression et l'anxiété, et leur possible association, sont parmi les troubles mentaux les plus communs. Leur diagnostic est complexe à établir en pratique clinique comme en recherche car il peut varier selon les systèmes de classification, les méthodes d'évaluation (auto-questionnaire, entretien) et les influences culturelles. On distingue les troubles anxio-dépressifs des réactions émotionnelles, des sautes d'humeur et du stress face aux problèmes habituels. En raison de leur nature chronique, des comorbidités associées et de la stigmatisation entourant les problèmes de santé mentale, les troubles anxio-dépressifs peuvent engendrer une grande souffrance chez les patients, pas toujours perceptible au premier abord, mais qui peut avoir de sérieuses répercussions sur la vie professionnelle et personnelle.

Les troubles anxio-dépressifs : quelques repères

Selon l'OMS, la dépression est la maladie qui provoque le plus d'incapacité dans le monde : elle est à l'origine de 7,5 % de la charge mondiale de morbidité (années perdues pour cause d'invalidité), alors que l'anxiété en représente 3,4 % (OMS, 2017). Il est estimé que 4,4 % de la population mondiale, soit 300 millions de personnes, sont atteintes de dépression et cette prévalence serait en hausse de 18 % entre 2005 et 2015, particulièrement dans les pays à plus faibles revenus. Près d'une personne sur dix en France déclare avoir vécu un épisode dépressif dans l'année précédente (Léon et coll., 2018). Le taux de prévalence national, qui était stable entre 2005 et 2010, est en hausse de 1,8 % entre 2010 et 2017 et il est deux fois plus élevé chez les femmes (13 % *versus* 6,4 % chez les hommes) et les inactifs. Une étude qui reposait sur les données de 2010-2014 en France, a rapporté que plus de 1,3 million de personnes ont été prises en charge pour les troubles d'anxiété pendant cette période (Chan Chee et Badjadj, 2018). L'anxiété était le diagnostic principal dans environ 90 % des cas, et les auteurs ont montré une augmentation significative des recours aux soins pour l'anxiété de l'ordre de 3,6 %.

Les personnes atteintes de troubles anxio-dépressifs présentent un risque accru de tentatives de suicide et de suicide. L'OMS estime entre 5 et 20 % le taux de suicide des patients souffrant d'un épisode dépressif majeur. Des études récentes ont évalué la prévalence des pensées suicidaires et tentatives de suicide chez les 18-75 ans dans la population générale en France (Léon et coll., 2019) ainsi que leur association avec le statut socio-économique et le secteur d'activité (Delézire et coll., 2019). Les résultats de plusieurs enquêtes, menées depuis 2010, ont montré qu'entre 4 et 5 % des adultes ont eu des pensées suicidaires au cours de la dernière année (Delézire et coll., 2019). La prévalence est plus élevée chez les femmes et les inactifs, et est fortement associée au fait d'avoir subi un épisode dépressif récent (OR = 8,3 et 6,6 respectivement chez les hommes et les femmes).

De manière générale, les personnes travaillant dans le secteur agricole ont un risque élevé de décès par suicide. Une étude en France par Delézire et coll. a montré que le taux de prévalence des pensées suicidaires est plus élevé chez les hommes exerçant comme agriculteurs exploitants que dans d'autres catégories socioprofessionnelles (cadres, employés, ouvriers...) et la majorité (85,4 %) attribuent ces pensées à des raisons professionnelles, même si les différences ne sont pas significatives à cause des faibles effectifs (Delézire et coll., 2019). Les pensées suicidaires sont un facteur de risque majeur du suicide accompli. Dans la population française, le taux de mortalité par suicide est de 15,8 pour 100 000 personnes avec un taux 3 fois plus élevé chez les hommes (OMS, 2012), ce qui représente environ 9 000 décès par an (Léon et coll., 2019). Le risque de mortalité par suicide chez les agriculteurs exploitants en France, évalué entre 2008 et 2010, est supérieur d'environ 20 % à celui de la population générale, et pour les hommes, il varie selon l'âge, la région d'exploitation et la surface cultivée (Gigonzac et coll., 2017). L'exposition aux pesticides n'a pas été évaluée dans les études décrites ci-dessus, mais elle est considérée comme un facteur de risque pour les troubles de santé mentale (anxiété, dépression) chez les agriculteurs (Khan et coll., 2019b).

Les troubles anxio-dépressifs sont d'origine multifactorielle et proviennent d'interactions complexes entre des facteurs biologiques, psychologiques et environnementaux. Cependant, leurs déterminants restent en grande partie méconnus. Seuls certains facteurs exogènes sont clairement identifiés tels que les évènements de vie douloureux (deuil, séparation, perte d'emploi, accident, maladie), l'environnement social ou le contexte professionnel.

Les contraintes de la vie professionnelle sont reconnues comme un facteur prédisposant et/ou aggravant des troubles anxio-dépressifs. En ce qui concerne les agriculteurs, certaines caractéristiques de l'environnement de

travail (pression temporelle, fatigue physique, longues journées, aléas saisonniers et météorologiques, isolement, difficultés économiques) ont été associées à une élévation du risque de suicide. De plus, des études menées depuis la fin des années 1970 ont suggéré un effet des pesticides sur l'humeur (symptômes dépressifs, troubles du sommeil, anxiété et irritabilité) chez les personnes ayant subi une intoxication aiguë. Des études épidémiologiques réalisées au cours de ces dernières 20 années, observent des effets comparables dans le cas de l'exposition professionnelle chronique, notamment pour les insecticides organophosphorés. Si l'ingestion de pesticides est un moyen de suicide, l'hypothèse selon laquelle l'exposition aux pesticides pourrait être un facteur de risque de suicide mérite également d'être considérée compte tenu de l'importance de ce problème de santé publique. Une revue systématique récente a montré que restreindre l'accès aux pesticides, dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, conduit à une réduction du risque de suicide dans la population générale (Gunnell et coll., 2017).

Malgré des avancées sur ces questions, l'association entre l'exposition aux pesticides et les troubles anxio-dépressifs ainsi que les mécanismes neurobiologiques potentiellement impliqués restent mal définis. Afin d'éclairer les connaissances sur ces questions, ce chapitre fait la synthèse de la littérature publiée sur ce sujet depuis 2013.

Résumé et conclusions de l'expertise collective Inserm de 2013

L'expertise collective précédente avait identifié une trentaine d'études abordant la question des troubles anxio-dépressifs en lien avec les expositions aux pesticides (Inserm, 2013). Celles-ci présentaient certaines limites méthodologiques en raison d'effectifs souvent restreints, d'une hétérogénéité dans la définition des troubles, et de l'existence de facteurs de confusion. En particulier, en milieu agricole, d'autres facteurs comme l'isolement social ou des difficultés économiques pouvaient également expliquer les troubles. En dépit de ces limites, les études publiées convergeaient vers une plus grande fréquence de troubles anxieux et dépressifs chez les personnes exposées aux pesticides, aussi bien dans les suites d'intoxications aiguës, que pour des expositions modérées mais prolongées. Par ailleurs, plusieurs études suggéraient un lien possible avec des tentatives de suicide, sans qu'il soit réellement possible d'affirmer le rôle spécifique des pesticides. La synthèse évoquait l'existence d'arguments biologiques en faveur d'un possible effet de certaines substances au niveau du système nerveux central, telles que des perturbations

des niveaux de la sérotonine, un neuromédiateur jouant un rôle important dans la régulation de l'humeur, expliquées par des expositions à certains pesticides, comme les organophosphorés.

Nouvelles données épidémiologiques

Trois revues ont été publiées depuis 2013 sur le lien entre exposition aux pesticides et santé mentale. Une revue de la littérature sur le lien entre pesticides et dépression/suicide a été réalisée à partir de l'ensemble des articles identifiés entre 1995 et 2011, en excluant les intoxications volontaires par les pesticides, les études chez l'animal, les études de cas et les revues, ainsi que les articles qui n'étaient ni en anglais, ni en espagnol, ni en portugais (Freire et Koifman, 2013). Sur les 221 articles identifiés sur ces critères, 22 ont été retenus, correspondant à 3 études longitudinales, 9 études transversales, 5 études cas-témoins et 5 études écologiques. Onze études traitaient du risque de dépression et quatorze de suicides. Cinq études trouvaient un lien entre les intoxications aiguës par des pesticides et la dépression, avec des niveaux de risque allant d'un doublement à un quintuplement, alors que les études portant sur les expositions chroniques trouvaient des risques plus faibles. L'analyse concluait à l'existence d'un lien observé dans diverses populations, qui nécessitait d'être confirmé par des études plus larges et prospectives. Une seconde revue a été publiée en 2014, portant sur le rôle des organophosphorés dans les atteintes neurologiques chez l'être humain. Elle a inclus 24 articles publiés entre 1980 et 2014, portant aussi bien sur des déficits cognitifs que sur des troubles neuropsychiatriques (Takahashi et Hashizume, 2014). Compte-tenu de l'hétérogénéité des effets retenus, cette revue ne permet pas d'apprécier spécifiquement le rôle des organophosphorés dans les troubles anxio-dépressifs.

Une autre revue, non systématique, a porté sur le rôle des pesticides sur la santé mentale des travailleurs agricoles en incluant 30 articles (parmi 972 initialement identifiés), à partir de sources diverses et sans restriction de date. Elle met en évidence le rôle des expositions à haute ou faible dose et souligne la nécessité de mieux caractériser à la fois les troubles de santé et les expositions (Khan et coll., 2019b).

Troubles anxio-dépressifs et intoxication aiguë par des pesticides

Depuis la précédente expertise collective, deux études de cohorte (tableau 5.I, voir en fin de ce chapitre) sont venues compléter la littérature existante relative aux troubles anxio-dépressifs pouvant survenir dans les suites d'une intoxication aiguë par des pesticides. On dénombrait auparavant 7 études sur cette question, dont une s'appuyait sur un suivi longitudinal de 3 années et mettait en évidence un lien entre les expositions aux pesticides et les symptômes dépressifs chez des agriculteurs du Colorado (Beseler et Stallones, 2008).

La première étude de cohorte est de nature rétrospective et a été menée en Grande-Bretagne dans l'objectif d'identifier des troubles neuropsychiatriques en lien avec des traitements insecticides réalisés sur les moutons depuis les années 1970, et donc pouvant potentiellement conduire à une exposition par des organophosphorés (Povey et coll., 2014). La population (1 748 répondants) a été identifiée dans l'ensemble de la Grande-Bretagne à l'aide de listes de syndicats et d'associations (effectif total : 18 958 personnes) et les participants ont répondu à un questionnaire sur l'activité professionnelle et sur des symptômes de dépression, la démence, la maladie de Parkinson et les neuropathies. Concernant la dépression, un risque multiplié par 10 a été mis en évidence chez les personnes ayant été prises en charge pour une intoxication par un pesticide (OR = 10,0 ; IC 95 % [4,8-20,8]). Cette association n'était pas retrouvée chez les personnes ayant manipulé des pesticides sans avoir subi d'intoxication. L'existence de troubles somatiques n'expliquait pas les résultats obtenus.

La seconde est une cohorte prospective de 1 895 agriculteurs sud-coréens, interrogés en face à face en 2011 et ayant complété une échelle de dépression (*Geriatric Depression Scale* ; GDS-15) (Kim et coll., 2013). Parmi eux, 197 étaient considérés comme présentant une dépression à partir des résultats aux tests. Le risque de dépression apparaissait plus élevé chez ceux qui rapportaient un antécédent d'intoxication professionnelle par un pesticide (OR = 1,61 ; IC 95 % [1,10-2,34]), plus encore quand la description des symptômes liés à cette intoxication la classait comme modérée ou sévère (OR = 2,81 ; IC 95 % [1,71-4,63]). Ces troubles n'étaient pas associés avec l'exposition cumulée au cours de la vie. Un lien était observé plus spécifiquement avec les herbicides, et en particulier avec le paraquat.

Ainsi, les deux nouvelles analyses de cohorte renforcent le lien qui était établi entre intoxication aiguë aux pesticides et troubles dépressifs, chez des éleveurs de moutons notamment exposés aux organophosphorés en

Grande-Bretagne, et en lien avec des herbicides dont le paraquat dans la cohorte coréenne d'agriculteurs (cultures de riz, légumes et fruits).

Troubles anxio-dépressifs et exposition chronique aux pesticides

Lors de l'expertise collective de 2013, la question du lien possible entre les troubles neuropsychiatriques, en particulier le risque de dépression, et l'exposition chronique aux pesticides était émergente. Depuis cette précédente synthèse, qui rapportait les résultats d'une dizaine d'études transversales et de deux études longitudinales, de nouvelles études transversales (7) et longitudinales (5) ont été produites (tableau 5.II, voir en fin de ce chapitre).

Études transversales

Trois études transversales ont été menées en Amérique du Sud et au Mexique, dans des contextes agricoles spécifiques (culture du café et du tabac au Brésil et culture de légumes au Mexique), et quatre autres en Angleterre, en Turquie, au Bangladesh et en France.

Au Brésil, dans une zone fortement productrice de tabac, une étude a mis en évidence une association entre l'exposition aux pesticides et les symptômes dépressifs et anxieux rapportés par 869 résidents d'une municipalité, de l'ordre d'un doublement de risque. Le lien apparaissait notamment avec l'exposition à certains pesticides, tels que les alcools aliphatiques, les pyréthrinoïdes, les sulfonylurées et les dinitroanilines (Campos et coll., 2016). Dans ce même pays, mais dans un contexte de production de café, un lien fort a été mis en évidence entre les symptômes dépressifs, mesurés par l'échelle de Beck (score au-delà de 10) et l'exposition aux pesticides, directe ou indirecte, chez 220 travailleurs. Les ouvriers exposés au glyphosate et à au moins un autre pesticide avaient un risque multiplié par 5 de présenter un score élevé de symptômes dépressifs (Conti et coll., 2018).

Dans le Nord-Ouest du Mexique, la présence de troubles psychiatriques, évaluée à l'aide de l'échelle de la MINI (*Mini International Neuropsychiatric Interview*), a été comparée entre un groupe de 140 ouvriers agricoles impliqués dans la récolte de légumes et un groupe de personnes vivant en zone urbaine (Serrano-Medina et coll., 2019). En parallèle, l'activité anti-acétylcholinestérasique sanguine a été mesurée. Les résultats montraient une fréquence significativement plus élevée de troubles psychiatriques dans le groupe exposé (en particulier dépression avec risque suicidaire et dépression

diagnostiquée par un médecin) et un lien significatif entre l'importance des symptômes et la chute de l'activité anti-acétylcholinestérasique mesurée dans le sang. Cependant, les groupes de cette étude n'étaient pas strictement comparables concernant l'âge et le niveau d'études.

En Angleterre, une étude portant sur 127 éleveurs de moutons, exposés aux organophosphorés par le trempage de leurs animaux, et des policiers ruraux non exposés (n = 78), présentée dans la précédente expertise collective (Mackenzie Ross et coll., 2010), a été ré-analysée en utilisant une autre approche pour l'évaluation des troubles psychiatriques (Harrison et Mackenzie Ross, 2016). En plus de deux échelles calculant des scores de dépression et d'anxiété sur la base de questionnaires complétés par les participants, le classement des sujets a été réalisé à l'aide d'une grille d'examen clinique, considérée comme la référence pour ce diagnostic. Les auteurs trouvent un lien entre l'exposition aux pesticides et les scores de dépression et d'anxiété sur la base de la déclaration des patients, mais ne retrouvent un lien avec le diagnostic clinique que pour l'anxiété.

En Turquie, une étude a été menée sur une large population d'agriculteurs âgés de 18 à 55 ans (1 855 personnes dont 937 hommes), interrogés en face à face sur leur santé mentale et sur leurs expositions agricoles. Des questions étaient posées aux hommes sur leurs usages de pesticides et sur des troubles ressentis lors des applications de pesticides. Un tiers de la population mentionnait des symptômes psychiatriques, incluant pour 2 % des hommes et 3 % des femmes des idées suicidaires. L'exposition aux pesticides chez les hommes doublait le risque d'être dépressif (OR = 1,8 ; IC 95 % [1,1-3,2]). D'autres facteurs expliquaient également une mauvaise santé mentale : les difficultés économiques, être migrant, se déclarer en mauvaise santé, avoir une maladie chronique ou des antécédents de traumatisme (Simsek et coll., 2017).

Au Bangladesh, une étude transversale a été menée sur 57 personnes, habitant dans une zone couverte par un système de surveillance démographique et sanitaire, sélectionnées lors d'une visite à l'hôpital (Khan et coll., 2019a). L'étude a inclus des adultes (de 30 à 55 ans), mariés, actifs, non fumeurs et n'ayant pas participé à des travaux agricoles au cours de leur vie. La distance entre les champs et les lieux de résidence des sujets (moins ou plus de 200 mètres) a été évaluée par un enquêteur, et ce paramètre a servi de proxy pour l'exposition aux pesticides agricoles. Par ailleurs, une évaluation de paramètres neurologiques a été réalisée : TMT (*Trail Making Test*), mesure du seuil vibratoire, mesure de la vitesse de conduction nerveuse, symptômes neurologiques. Une version modifiée de la CES-D (*Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale*) a également été proposée aux participants. Après

ajustement sur de nombreux facteurs individuels, les analyses montraient, chez les personnes résidant à proximité des champs traités, une élévation du seuil vibratoire, un ralentissement au TMT (partie B), mais pas de différence de la vitesse de conduction nerveuse, de l'auto-déclaration de symptômes neurologiques et des items relatifs à la dépression.

En France, une étude cas-témoins menée sur la maladie de Parkinson en lien avec la Mutualité sociale agricole en 1998-2000 a offert l'opportunité d'analyser de manière transversale le lien entre les pesticides et l'existence d'une dépression traitée ou prise en charge à l'hôpital, rapportée par les participants (Weisskopf et coll., 2013). Seuls les individus ayant travaillé en agriculture ont été retenus (n = 567). Quatre-vingt-trois patients ont mentionné une dépression (33 hommes et 50 femmes). Une association a été mise en évidence entre l'utilisation d'herbicides et l'existence d'une dépression (HR = 1,93 ; IC 95 % [0,95-3,91]), devenant significative lorsque cette utilisation dépassait 19 années (HR = 2,31 ; IC 95 % [1,05-5,10]) ou en prenant en compte le nombre d'heures d'exposition. Les herbicides les plus fortement associés étaient les carbamates, les dinitrophénols et l'acide picolinique. Aucune association n'a été observée avec les fongicides ou les insecticides.

Les sept nouvelles analyses transversales menées dans les différents pays vont dans le sens d'une augmentation du risque de troubles anxio-dépressifs en lien avec des expositions chroniques aux pesticides, globalement moins fortes que celles mises en évidence avec les intoxications aiguës, mais pouvant néanmoins atteindre un doublement. Trois de ces études ont suggéré des liens avec des herbicides de natures différentes (sulfonylurées, dinitroanilines, carbamates, dinitrophénols, le glyphosate et l'acide picolinique…), mais pas avec les pesticides organophosphorés.

Études longitudinales

Deux nouvelles analyses ont été menées au sein de l'*Agricultural Health Study* (AHS) et trois autres études longitudinales ont fourni des résultats : l'une au Canada à partir d'une cohorte rétrospective de céréaliers, une cohorte agricole prospective en Corée et une dernière dans l'Iowa.

Dans l'expertise de 2013, les publications de Beseler et coll. sur les troubles anxio-dépressifs au sein de l'AHS étaient de nature transversale, avaient montré des risques de dépression doublés ou triplés en lien avec l'exposition aux pesticides, et mettaient en évidence le rôle des intoxications aiguës (Beseler et coll., 2006 ; Beseler et coll., 2008 ; Beseler et Stallones, 2008). Au sein de cette même cohorte, des analyses longitudinales ont depuis été

menées, portant sur les cas incidents entre l'inclusion et le suivi à 12 ans, d'une part chez les hommes (Beard et coll., 2014) et d'autre part chez les femmes (Beard et coll., 2013). Douze années après l'inclusion dans la cohorte, un entretien téléphonique mené en 2005-2010 et comportant des questions sur la dépression, a permis de classer les 21 208 hommes éligibles pour les analyses selon l'existence d'une dépression diagnostiquée par un médecin avant l'inclusion (n = 306), à l'inclusion et au suivi (n = 315) ou au suivi seulement (n = 371) (Beard et coll., 2014). L'existence d'une dépression chez les hommes a été associée, de manière statistiquement significative, avec l'utilisation de fumigants ou d'organochlorés, de phosphure d'aluminium, de dibromure d'éthylène, de 2,4,5-T, de dieldrine, de diazinon, de malathion et de parathion. Une relation avec l'index cumulé au cours de la vie était observée pour le dibromure d'éthylène, le captane et le lindane. Une association forte était observée avec un antécédent d'intoxication, principalement dans le groupe signalant une dépression à l'inclusion (OR = 4,2 ; IC 95 % [2,7-6,6]) mais également dans celui rapportant des symptômes à la fois à l'inclusion et au suivi (OR = 2,5 ; IC 95 % [1,4-4,4]). L'analyse de la dépression chez les femmes (n = 16 893) a été réalisée de la même manière après un suivi de 12 années, en considérant les cas incidents (n = 1 054), et en prenant en compte l'utilisation de pesticides par la femme elle-même ou par son conjoint (Beard et coll., 2013). Les auteurs ne mettaient pas en évidence de lien entre la dépression et l'utilisation de pesticides au cours de la vie (en oui/non ou en prenant en compte un index cumulé), et cette absence de lien était également montrée en considérant l'usage de pesticides chez les conjoints pour les femmes n'ayant pas utilisé elles-mêmes de pesticides. En revanche, les femmes ayant un antécédent d'intoxication aiguë par un pesticide étaient plus fréquemment dépressives. La prise en compte d'un traitement antidépresseur dans la définition de la dépression ne modifiait pas ces résultats.

Au Canada, près de 2 500 agriculteurs céréaliers, identifiés à partir d'une liste datant des années 1980 et une autre de 2002, ont été interrogés sur la présence de symptômes neuropsychiatriques et sur leurs expositions aux pesticides, à l'aide d'un questionnaire incluant une centaine de spécialités commerciales (Cherry et coll., 2012). Le score de santé mentale élaboré à partir de leurs réponses était associé négativement à l'utilisation de phénoxy-herbicides, mais ne montrait pas de lien avec d'autres substances, notamment avec les organophosphorés. La prise en compte d'un antécédent d'intoxication aiguë ne changeait pas les résultats. Dans un sous-échantillon de la population, un croisement a pu être réalisé avec les bases de l'Assurance maladie. Il montrait une faible cohérence entre les prises en charge pour raisons neuropsychiatriques et les déclarations des personnes. Dans cet

échantillon, un lien fort était observé entre une prise en charge hospitalière pour des troubles neuropsychiatriques et une exposition de plus de 35 ans aux phénoxyherbicides.

Dans une étude sud-coréenne, le questionnaire CES-D a été utilisé pour mesurer la survenue de cas incidents de symptômes dépressifs dans une cohorte de 2 151 agriculteurs sur une période de 2,8 ans. Les symptômes dépressifs, avec un total de 115 cas recensés, était plus fréquents chez les hommes présentant un score d'exposition élevé, estimé à l'aide de la durée et d'un algorithme associant les caractéristiques des tâches, du matériel et des équipements de protection (OR = 2,2 ; IC 95 % [1,3-3,8] dans la catégorie haute de l'exposition) et chez ceux qui avaient des antécédents d'intoxication aiguë (OR = 5,8 ; IC 95 % [1,8-18,9]) (Koh et coll., 2017).

Une cohorte de 257 agriculteurs en Iowa (États-Unis) a été établie pour mettre en place des études d'intervention dans le cadre d'un programme de sécurité et de santé au travail, et a permis d'analyser de manière prospective le lien entre l'humeur dépressive et les expositions agricoles, incluant les usages de pesticides (Onwuameze et coll., 2013). Dans cette cohorte, les agriculteurs étaient contactés par téléphone chaque trimestre pour donner des informations sur leurs activités professionnelles, leurs expositions et leur état de santé – notamment leur humeur – soit à 10 reprises au cours de l'étude. Un quart des personnes ont rapporté une humeur très dépressive et ont été classées dans le groupe « dépression ». Une association était mise en évidence entre l'usage des pesticides et la « dépression » (OR = 1,27 ; IC 95 % [1,06-1,53]), qui n'était pas modifiée par la prise en compte d'autres paramètres associés à la dépression, à savoir les antécédents de blessure, le stress (qui multipliait le risque de dépression par 3) et avoir un autre emploi non agricole.

L'ensemble des nouvelles analyses longitudinales menées depuis la précédente expertise converge vers une association entre les expositions chroniques aux pesticides et la survenue de troubles anxio-dépressifs, avec des liens forts pour ceux qui ont un antécédent d'intoxication aiguë. Trois de ces analyses évoquent des liens avec des molécules variées.

Suicide et exposition aux pesticides

Neuf études portant sur le risque de suicide en lien avec l'exposition aux pesticides avaient été présentées dans l'expertise collective précédente et suggéraient un lien possible entre pesticides et suicide. Mais, ces études ne permettaient pas de distinguer le rôle spécifique des pesticides de celui

d'autres facteurs de risque, ni d'argumenter la causalité du lien. Depuis, trois études se sont ajoutées : des résultats provenant d'une cohorte agricole sud-coréenne, une analyse transversale d'une cohorte chinoise et une étude écologique au Brésil (tableau 5.III, voir en fin de ce chapitre).

Au sein de la cohorte sud-coréenne d'hommes en milieu agricole, des questions ont été posées sur des idées suicidaires dans l'année précédant l'entretien (Kim et coll., 2014). Celles-ci étaient rapportées chez près de 5 % des personnes. Un lien était observé avec un antécédent d'intoxication aiguë par un pesticide, atteignant un triplement de risque pour plus d'un épisode, et plus marqué chez les personnes ayant été hospitalisées lors de cet épisode (non significatif mais p de tendance = 0,001).

Dans la province de Jilin en Chine, l'étude de 43 cas de personnes ayant tenté de mettre fin à leurs jours avec des pesticides et de 43 témoins en population générale appariés sur le sexe et l'âge a mis en évidence une plus grande fréquence de symptômes pouvant être liés à des expositions aux organophosphorés (nausées, vomissements, hypersudation...) et des scores plus élevés sur des échelles mesurant l'agressivité et l'impulsivité (Lyu et coll., 2018).

Au Brésil, une étude écologique a analysé les taux de mortalité par suicide dans des villes où la culture du tabac était implantée par rapport à des villes ne disposant pas de cette culture, chez les agriculteurs et chez les non-agriculteurs, en incluant des données sur la part des exploitations utilisant des pesticides (Krawczyk et coll., 2014). Une surmortalité par suicide est observée à la fois en lien avec le métier d'agriculteur et avec le fait de résider dans une région où la culture de tabac est présente. Ce résultat évoque le rôle possible des pesticides d'une part et de la culture de tabac d'autre part, possiblement en lien avec des intoxications à la nicotine.

Ces nouvelles études vont dans le sens d'un lien entre suicides et exposition aux pesticides, mais présentent, comme les études précédentes, une difficulté à écarter des facteurs de confusion liés au milieu agricole.

Conclusion

Près d'une vingtaine de nouveaux articles ont traité du lien entre pesticides et troubles anxio-dépressifs depuis la précédente synthèse, portant à près d'une cinquantaine le nombre total de publications sur cette question. Les articles récents s'orientent plus fréquemment vers la question du rôle des expositions chroniques, celui des expositions aiguës semblant admis – et confirmé par les nouvelles analyses – et les analyses longitudinales se font

plus nombreuses, en particulier au sein de l'*Agricultural Health Study* et de la cohorte agricole coréenne. Les études restent hétérogènes aussi bien du point de vue de la mesure des effets (diverses échelles de dépression) que de la mesure des expositions. Pourtant, les résultats convergent vers l'existence d'une association, avec des triplements ou quadruplements de risque pour les expositions aiguës et des niveaux de risque plus modérés pour les expositions chroniques mais atteignant des doublements. Certaines molécules ont été associées aux troubles, et contrairement aux publications antérieures, elles n'évoquent pas uniquement un lien avec les organophosphorés : plusieurs d'entre elles suggèrent des liens avec des herbicides de familles diverses. Quelques études montrent également des liens avec les suicides mais elles restent limitées sur la prise en compte des facteurs de confusion, et interrogent sur la possibilité de causalité inverse. Ces résultats éclairent néanmoins de manière plus large le constat répété dans de nombreux pays et contextes d'un excès de suicides en milieu agricole. Par ailleurs, compte-tenu de la fréquence des altérations psychiques et des suicides dans nos sociétés, l'hypothèse du rôle possible des pesticides soulève des questions de santé publique importantes. En regard des constats épidémiologiques, le rôle de certains pesticides sur le système nerveux central et les interférences possibles avec des neuromédiateurs impliqués dans la régulation de l'humeur doivent susciter des recherches mécanistiques.

Tableau 5.I : Études épidémiologiques portant sur le lien entre intoxication aiguë par des pesticides et troubles psychiatriques

Référence Pays Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence et durée d'exposition	Méthodes d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats et commentaires
Povey et coll., 2014 Grande-Bretagne Cohorte rétrospective	Agriculteurs (95 % hommes) actifs en 1970 en Grande-Bretagne, âgés de ≥ 13 ans en 1957 74,8 % résidents d'Angleterre Identification à partir de listes de syndicats et associations (n = 18 958) dont 4 635 décédés et 1 748 répondants éligibles	PHQ-9 *depression severity* score ≥ 10 Questions sur démence, Parkinson, maladies neurologiques	83 % ont élevé des moutons (46 % > 31 années). 81 % ont trempé des moutons. 75 % ont manipulé les produits. 3 % pris en charge pour intoxication	Questionnaire sur les tâches Nombre d'années de travail avec des moutons Classement en 4 groupes selon histoire intoxication aiguë et/ou manipulation de pesticides	Âge, sexe, région, tabagisme	Association forte entre l'existence d'une intoxication aiguë et la dépression OR = 10,0 [4,8-20,8] Pas de lien pour la dépression avec la simple manipulation sans intoxication (mais lien avec Parkinson et neuropathie)
Kim et coll., 2013 Corée du Sud Cohorte prospective	Agriculteurs, hommes Questionnaires en face à face Inclusion en 2011 n = 1 895	Échelle de dépression gériatrique (GDS-15) score ≥ 8	Principale culture : riz (43 %), puis les légumes et les fruits Nombre de jours médian d'exposition au cours de la vie : 129	ATCD d'intoxication aiguë en 2010. Sévérité définie à partir des symptômes ≤ 48 h après utilisation : sévères (paralysie, syncope) ou modérés (diarrhée, vomissements, dyspnée, vision floue, paresthésie, douleur poitrine, troubles de la parole) Prise en charge : aucune, automédication, hospitalisation Pesticides en cause	Âge, sexe, revenus, statut marital, niveau d'études, alcool, tabagisme, santé perçue, IMC, caractéristiques du travail	197 agriculteurs avec un score de dépression élevé Élévation du risque de dépression si histoire d'intoxication professionnelle OR = 1,61 [1,10-2,34] Lien avec la sévérité de l'intoxication. Si modérée ou sévère OR = 2,81 [1,71-4,63] Pas de lien avec la durée cumulée d'exposition Association avec les herbicides, en particulier le paraquat

ATCD : antécédents ; CES-D : *Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale* ; GDS : *Geriatric Depression Scale* ; IMC : indice de masse corporelle ; PHQ : *Patient Health Questionnaire*. Les intervalles de confiance donnés sont les intervalles de 95 %.

Tableau 5.II : Études épidémiologiques portant sur le lien entre exposition chronique aux pesticides et troubles psychiatriques

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence et durée d'exposition	Méthodes d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats et commentaires
Études transversales						
Conti et coll., 2018 Brésil (Sud-Est)	220 hommes volontaires, 18-65 ans, ouvriers agricoles Région de production du café Robusta	*Beck Depression Inventory* (BDI ; 21 items appréciant les symptômes dépressifs) Dichotomisé (seuil = 10)	Glyphosate 77 % Flutriafol, cyproconazole, thiaméthoxame	Questionnaire	Âge, statut marital, groupe ethnique, niveau d'études, statut économique, alcool, tabagisme, santé perçue, maladie chronique	Exposition aux pesticides en général est associée aux symptômes dépressifs (pas le glyphosate seul, mais en association avec les autres molécules) OR = 5,5 [1,2-25,9] Lien également entre les symptômes et le tabagisme, la santé perçue et les maladies chroniques
Campos et coll., 2016 Brésil (Sud)	Résidents en 2011-12 d'une municipalité où le tabac est cultivé ; âgés ≥ 18 ans et parlant portugais (n = 869)	*Self Reporting Questionnaire (SRQ-20* ; seuil = 8) Troubles mentaux et symptômes dépressifs rapportés	72 % exposés aux pesticides dont 33 % avant l'âge de 15 ans 28 % malades après utilisation de pesticides 14 % utilisent des EPI	Période de culture et de récolte du tabac Intoxications aiguës Historique agricole et d'exposition aux pesticides EPI	Sexe, âge, niveau d'études, couleur de peau, insécurité alimentaire, maladies chroniques Dépendance ou abus d'alcool, tabagisme Cotinine urinaire	Avoir été intoxiqué, risque de dépression ou trouble mental : OR = 2,6 [1,6-4,3] Doublement de risque de troubles rapportés avec les alcools aliphatiques et les Pyr Lien avec dinitroaniline et sulfonylurée pour expositions longues

Tableau 5.II : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence et durée d'exposition	Méthodes d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats et commentaires
Harrison et Mackenzie Ross, 2016 Angleterre (Nord et Sud-Ouest)	Éleveurs de moutons, 18-70 ans d'âge, exposés aux OP, actifs ou retraités, ayant changé ou arrêté pour cause médicale (n = 127) Non exposés : policiers (n = 78) Critères inclusion : ≥ 5 ans exposition aux OP < 1991, pas d'ATCD d'intoxication aiguë, neuro, alcool	*Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)* *Beck Anxiety (BAI) and Depression (BDI) Inventories* mesurant l'anxiété et la dépression, rapportées par les individus Évaluation SCID (la référence pour ce diagnostic)	> 20 ans d'exposition en moyenne, et dernière exposition remonte en moyenne à 10 ans	Exposition professionnelle par trempage des moutons Calendrier professionnel, caractéristiques de l'exposition : fréquence et durée Calcul du nombre de jours au cours de la vie	Évènements de vie stressants au cours des 12 derniers mois Santé physique perçue Niveau d'études, sexe, QI Ajustement sur âge, dépression, anxiété	Association entre les scores de dépression et d'anxiété (HADS ou BDI) et l'exposition Lien moins clair avec la dépression en utilisant l'évaluation clinique, mais persistance du lien avec l'anxiété
Serrano-Medina et coll., 2019 Mexique (Basse-Californie)	140 ouvriers agricoles ≥ 18 ans habitant ≥ 6 mois dans la région Récolteurs des légumes dans des zones traitées Non exposées : 100 personnes habitant en zone urbaine	MINI test	OP utilisés dans la région : malathion, dicofol, parathion, chlorpyrifos, phosmet, azinphos-méthyl, méthamidophos	Mesure de l'inhibition de l'AChE plasmatique, immédiatement après prélèvement	Différences d'âge, de niveau d'études et de statut marital entre les 2 groupes	Dépression + risque suicidaire 31,4 % des exposés (*versus* 8 %) Dépression avec diagnostic médical 14,3 % des exposés (*versus* 3 %) Chute de l'AChE, d'autant plus marquée que les troubles sont importants
Simsek et coll., 2017 Turquie (Anatolie)	Recrutement à partir des foyers : éligibles si travail agricole n = 1 071 foyers 1 855 individus entre 18-55 ans, dont 918 femmes et 937 hommes	*General Health Questionnaire* GHQ-12 en face à face	74 % ont plus de 7 ans d'expérience en agriculture 32 % de migrants agricoles	Questions posées seulement aux hommes : Avoir appliqué des pesticides Avoir des troubles lors de l'application	Âge, sexe, taille du foyer, niveau d'études, langue, nombre d'années en agriculture, résidence urbaine/rurale, maladies chroniques, santé générale, niveau économique...	Problème de santé mentale chez 32 %. Risque élevé chez les hommes exposés aux pesticides : OR = 1,8 [1,1-3,2] Idées suicidaires chez 2 % des hommes et 3 % des femmes Autres facteurs associés chez les hommes : situation économique, être migrant, mauvaise santé perçue, maladie chronique, ATCD de traumatisme

Tableau 5.II : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence et durée d'exposition	Méthodes d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats et commentaires
Khan et coll., 2019a Bangladesh	57 volontaires issus d'un système de surveillance sanitaire, lors d'une visite à l'hôpital, âgés de 30 à 55 ans, mariés, actifs, non-fumeurs et n'ayant pas travaillé en agriculture	Test cognitif : *Trail Making Test (TMT-A/B)*, vitesse de conduction nerveuse, seuil vibratoire, symptômes neurologiques, échelle de dépression adaptée de la CES-D	19 résidaient à plus de 200 m, et 38 à moins de 200 m. Pesticides utilisés dans la région : carbamates, OP, Pyr	Distance entre la résidence et les champs (plus ou moins de 200 m) utilisé comme proxy de l'exposition aux pesticides	Âge, sexe, IMC, pression sanguine, revenus, métiers, composition du foyer	Après ajustements, chez les exposés : élévation du seuil vibratoire, ralentissement au TMT-B, mais pas de différence dans les symptômes neurologiques, la vitesse de conduction ou les items de dépression
Weisskopf et coll., 2013 France	Participants d'une étude sur la maladie de Parkinson, identifiés en 1998-2000 Analyse restreinte aux cas (n = 177) et témoins (n = 390) ayant travaillé sur des exploitations	Traitement ou hospitalisation pour dépression Âge lors de l'épisode dépressif	Fréquence d'exposition aux familles d'herbicides : carbamates : 6 %, dinitrophénols : 18 %, acide picolinique : 11 %	Histoire professionnelle Entretien détaillé sur usages de pesticides par un médecin du travail Pesticides pour le jardinage Analyse des familles de pesticides pour les agents identifiés chez > 5 % des personnes non dépressives	Sexe, maladie de Parkinson, niveau d'études, tabac, trauma crânien avec perte connaissance Histoire d'AVC et utilisation de pesticides pour le jardinage Stratification sur la période : < 1971, 1971-80, 1981-94, > 1994	83 dépressifs (33 H, 50 F) Herbicides/dépression OR = 1,93 [0,95-3,91], plus marqué en restreignant aux seuls témoins ou aux hommes. Effet durée et nombre h Risque x3 pour les herbicides carbamates, dinitrophénols et acide picolinique Pas de lien avec les I et F

Tableau 5.II : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence et durée d'exposition	Méthodes d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats et commentaires
Études longitudinales						
Beard et coll., 2014 États-Unis (Iowa, Caroline du Nord) Cohorte prospective *Agricultural Health Study*	Inclusion 1993-97 et suivi en 2005-10 avec un questionnaire incluant la dépression Applicateurs, hommes (n = 21 208) dont 1 702 avec un diagnostic de dépression	Diagnostic par un médecin à l'inclusion et au suivi (avec précision de la mise en place d'un traitement) Âge de la dépression		Intoxication aiguë Exposition cumulée à 50 pesticides oui/non et nombre de jours au cours de la vie (quartiles) Catégories : I, H, F, (fumigants) 6 familles : phénoxys, triazines, carbamates, OC, OP, Pyr	Âge, État de résidence, niveau d'études, statut marital, nombre d'enfants, alcool, tabagisme, diabète, taille de l'exploitation, port d'EPI, nombre de visites médicales dans l'année écoulée, utilisation de solvants	206 cas prévalents à l'inclusion, 315 à l'inclusion et au suivi et 371 au suivi seulement Association positive entre dépression et certains pesticides : fumigants, OC, phosphure d'aluminium, dibromure d'éthylène, 2,4,5-T, dieldrine, diazinon, malathion, parathion. Relation avec l'index cumulé pour dibromure d'éthylène, captane, lindane. Lien avec les intoxications aiguës
Beard et coll., 2013 États-Unis (Iowa, Caroline du Nord Cohorte prospective *Agricultural Health Study*	Inclusion 1993-97 et suivi en 2005-10 avec un questionnaire incluant la dépression Épouses d'applicateurs (n = 16 893) dont 1 054 avec un diagnostic de dépression	Définitions de Beard et coll., 2014		Méthodes de Beard et coll., 2014 Usage de pesticides par la femme ou par son époux 7 familles de pesticides : phénoxys, triazines, chloroacétanilides, carbamates, OC, OP, Pyr	Facteurs de Beard et coll., 2014	Pas de lien entre la dépression incidente et l'exposition aux pesticides (oui/non ou cumulée) Lien entre la dépression et l'intoxication aiguë par un pesticide Femmes n'ayant jamais utilisé de pesticides : lien avec l'utilisation de carbamate par l'époux Pas de changement si on ajoute la prise d'un traitement à la définition de la dépression

Tableau 5.II : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence et durée d'exposition	Méthodes d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats et commentaires
Cherry et coll., 2012 Canada (Alberta) Cohorte rétrospective	Cohorte A : inscrite dans une association agricole en 1983 (n = 1 348) Cohorte B : identifiée auprès des instances agricoles en 2002 (n = 1 078)	Questionnaire sur les maladies diagnostiquées par un médecin : dont 12 symptômes neuropsychiatriques Score de santé mentale élaboré à partir des symptômes Croisement avec les bases de données de l'assurance maladie codes CIM-9 : 290-312 et CIM-10 : F00-F69 pour un sous-échantillon	> 90 % d'utilisateurs de pesticides 2,4-D ou MCPA : > 90 % ; Pyr : 16 % ; carbamates : 24 % ; OP : < 50 %	Questionnaire sur des produits commerciaux : 26 I, 48 H, 25 F avec les durées Base de données sur les matières 1981-2003 Intoxication par un pesticide Utilisation de pesticides au cours du mois écoulé	Âge, sexe, niveau d'études	… des agriculteurs signalent ≥ 1 symptôme (34 % se réveillent fatigués, 27 % troubles de mémoire, 27 % crampes) Lien score santé mentale et phénoxyherbicides (OR 1,75 à 2,09) selon la durée. Pas de changement avec les intoxications aiguës Assurance maladie : 1/3 ont une prise en charge psy. Peu de lien avec les symptômes déclarés. Association forte hospitalisation psy et exposition > 35 ans aux phénoxys (OR = 9,71 [0,85-111,39])
Koh et coll., 2017 Corée du Sud Cohorte prospective	Agriculteurs Questionnaires en face à face Inclusion en 2005-08, suivi en 2008-12 (exclusion des cas prévalents de dépression) n = 2 151	CES-D Échelle de dépression gériatrique (SGDS) (seuil : 8)		Algorithme AHS pour intensité (tâches, matériel, EPI) Durée en nombre de jours/an et années ATCD d'intoxication Pesticides pour le jardinage	Âge, sexe, statut marital, niveau d'études, revenus, alcool, tabac	115 cas de dépression incidents en 2,8 ans Plus de cas incidents parmi les exposés, en lien avec le score durée x intensité (OR = 2,2 [1,3-3,8] dans la catégorie haute) et avec les ATCD d'intoxication (OR = 5,8 [1,8-18,9])

Tableau 5.II : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence et durée d'exposition	Méthodes d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats et commentaires
Onwuameze et coll., 2013 États-Unis (Iowa) Cohorte prospective	Agriculteurs volontaires, contactés par le Ministère de l'Agriculture pour une étude d'intervention n = 257	Entretien téléphonique trimestriel : expositions professionnelles, accidents, maladies, dépression (humeur rapportée fortement ou très fortement dépressive) Questionnaire professionnel et examen de santé annuel		Données sur les activités sur la ferme, incluant les usages de pesticides, répétées à chaque entretien (soit 10 fois)	Âge, niveau d'études, alcool, tabac, santé perçue	Un quart des agriculteurs classés dépressifs Exposition aux pesticides associée à la dépression : OR = 1,27 [1,06-1,53] Autres facteurs associés à la dépression : antécédent de blessure, stress (multiplie le risque par 3) et avoir un autre emploi non agricole. Pas de changement de l'association avec les pesticides en ajustant sur ces facteurs

AHS : *Agricultural Health Study* ; ATCD : antécédents ; BDI : *Beck Depression Inventory* ; CES-D : *Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale* ; DSM-IV : *Diagnostic and Statistical Manual of Psychiatric Disorders* ; EPI : équipement de protection individuelle ; F : fongicide ; HADS : *Hospital Anxiety and Depression Scale* ; H : herbicide ; I : insecticide ; MCPA : acide 4-chloro-2-méthylphénoxyacétique ; MINI : *Mini International Neuropsychiatric Interview* ; OP : organophosphoré ; OC : organochloré ; Pyr : pyréthrinoïdes ; SCID : *Structured Clinical Interview for DSM-IV*. Les intervalles de confiance donnés sont les intervalles de 95 %.

Tableau 5.III : Études épidémiologiques portant sur le lien entre exposition aux pesticides et suicide

Référence Pays	Types d'études	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence et durée d'exposition	Méthodes d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats et commentaires
Kim et coll., 2014 Corée du Sud	Cohorte prospective	Cohorte de Kim et coll., 2013	Idées suicidaires à partir de la question « au cours de l'année écoulée, avez-vous pensé à vous faire du mal ou à mettre fin à vos jours » Questions complémentaires en cas de réponse positive Dépression mesurée avec le GDS-15 (score > 8)	Principale culture : riz	Méthodes de Kim et coll., 2013	Facteurs de Kim et coll., 2013	92 (4,7 %) agriculteurs ont eu des idées suicidaires au cours de l'année écoulée. Lien entre les idées suicidaires et l'intoxication modérée ou sévère, ou suscitant une prise en charge hospitalière OR = 2,48 [1,26-4,91] Triplement du risque si > 1 intoxication (non significatif mais avec p de tendance = 0,001)
Lyu et coll., 2018 Chine (province de Jilin)	Cas-témoins	Cas : tentatives suicide par pesticide, identifiées à l'hôpital. État mental stable pour l'étude (n = 43) Témoins : résidents d'un village à même distance de l'hôpital, apparié sur âge et sexe (n = 43)	Score d'impulsivité (*Barratt Impulsivity Scale*) et d'agressivité (*Agression Inventory*)		Exposition aux OP et symptômes		Cas : rapportent plus de symptômes d'exposition aux pesticides (compatibles avec OP) et davantage d'exposition professionnelle Scores d'agressivité et d'impulsivité plus élevés chez les cas
Krawczyk et coll., 2014 Brésil (Alagoas)	Étude écologique	Comparaison des taux de mortalité selon les caractéristiques des villes : nombre d'exploitations, présence de la culture tabac, part de la culture tabac, part d'exploitations produisant du tabac et utilisant des pesticides	Données de mortalité entre 1996 et 2005 (codes CIM-10 : X60-X84) (n = 122 036 décès dont 15 671 agriculteurs)	Région de production de tabac	Données du recensement agricole de 2006		OR de l'ordre de 3 pour la mortalité par suicide pour les agriculteurs Risque doublé pour les agriculteurs dans des villes produisant du tabac Risque accru pour les non-agriculteurs dans les villes produisant du tabac

ATCD : antécédents ; CIM-10 : Classification internationale des maladies, 10e révision ; GDS : *Geriatric Depression Scale*

RÉFÉRENCES

Beard JD, Umbach DM, Hoppin JA, *et al*. Pesticide exposure and depression among male private pesticide applicators in the agricultural health study. *Environ Health Perspect* 2014 ; 122 : 984-91.

Beard JD, Hoppin JA, Richards M, *et al*. Pesticide exposure and self-reported incident depression among wives in the Agricultural Health Study. *Environ Res* 2013 ; 126 : 31-42.

Beseler C, Stallones L, Hoppin JA, *et al*. Depression and pesticide exposures in female spouses of licensed pesticide applicators in the agricultural health study cohort. *J Occup Environ Med* 2006 ; 48 : 1005-13.

Beseler CL, Stallones L. A cohort study of pesticide poisoning and depression in Colorado farm residents. *Ann Epidemiol* 2008 ; 18 : 768-74.

Beseler CL, Stallones L, Hoppin JA, *et al*. Depression and pesticide exposures among private pesticide applicators enrolled in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2008 ; 116 : 1713-9.

Campos Y, Dos Santos Pinto da Silva V, Sarpa Campos de Mello M, *et al*. Exposure to pesticides and mental disorders in a rural population of Southern Brazil. *Neurotoxicology* 2016 ; 56 : 7-16.

Chan Chee C, Badjadj L. Prise en charge des patients avec troubles anxieux entre 2010 et 2014 dans les établissements ayant une autorisation en psychiatrie en France métropolitaine : analyse des données du RIM-P. *Bull Epidémiol Hebd* 2018 : 653-61.

Cherry N, Burstyn I, Beach J, *et al*. Mental health in Alberta grain farmers using pesticides over many years. *Occup Med (Lond)* 2012 ; 62 : 400-6.

Conti CL, Barbosa WM, Simao JBP, *et al*. Pesticide exposure, tobacco use, poor self-perceived health and presence of chronic disease are determinants of depressive symptoms among coffee growers from Southeast Brazil. *Psychiatry Res* 2018 ; 260 : 187-92.

Delézire P, Gigonzac V, Chérié-Challine L, *et al*. Pensées suicidaires dans la population active occupée en France en 2017. *Bull Epidémiol Hebd* 2019 : 65-73.

Freire C, Koifman S. Pesticides, depression and suicide: a systematic review of the epidemiological evidence. *Int J Hyg Environ Health* 2013 ; 216 : 445-60.

Gigonzac V, Breuillard E, Bossard C, *et al*. *Caractéristiques associées à la mortalité par suicide parmi les hommes agriculteurs exploitants entre 2007 et 2011*. Saint-Maurice : Santé publique France, 2017.

Gunnell D, Knipe D, Chang S-S, *et al*. Prevention of suicide with regulations aimed at restricting access to highly hazardous pesticides: a systematic review of the international evidence. *Lancet Glob Health* 2017 : e1026-e1037.

Harrison V, Mackenzie Ross S. Anxiety and depression following cumulative low-level exposure to organophosphate pesticides. *Environ Res* 2016 ; 151 : 528-36.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1 001 p.

Khan M, Karnati J, Hamid I, *et al*. Residential proximity to agricultural fields and neurological and mental health outcomes in rural adults in Matlab, Bangladesh. *Int J Environ Res Public Health* 2019a ; 16.

Khan N, Kennedy A, Cotton J, *et al*. A pest to mental health? Exploring the link between exposure to agrichemicals in farmers and mental health. *Int J Environ Res Public Health* 2019b ; 16.

Kim J, Shin D-H, Lee WJ. Suicidal ideation and occupational pesticide exposure among male farmers. *Environ Res* 2014 ; 128 : 52-6.

Kim J, Ko Y, Lee WJ. Depressive symptoms and severity of acute occupational pesticide poisoning among male farmers. *Occup Environ Med* 2013 ; 70 : 303-9.

Koh S-B, Kim TH, Min S, *et al*. Exposure to pesticide as a risk factor for depression: A population-based longitudinal study in Korea. *Neurotoxicology* 2017 ; 62 : 181-5.

Krawczyk N, Meyer A, Fonseca M, *et al*. Suicide mortality among agricultural workers in a region with intensive tobacco farming and use of pesticides in Brazil. *J Occup Environ Med* 2014 ; 56 : 993-1000.

Léon C, Chan-Chee C, Du Roscoät E. Baromètre de Santé publique France 2017 : tentatives de suicide et pensées suicidaires chez les 18-75 ans en France. *Bull Epidemiol Hebd* 2019 : 38-47.

Léon C, Chan-Chee C, Du Roscoät E, *et al*. La dépression en France chez les 18-75 ans : résultats du Baromètre santé 2017. *Bull Epidemiol Hebd* 2018 : 637-44.

Lyu CP, Pei JR, Beseler LC, *et al*. Case control study of impulsivity, aggression, pesticide exposure and suicide attempts using pesticides among farmers. *Biomed Environ Sci* 2018 ; 31 : 242-6.

Mackenzie Ross SJ, Brewin CR, Curran HV, *et al*. Neuropsychological and psychiatric functioning in sheep farmers exposed to low levels of organophosphate pesticides. *Neurotoxicol Teratol* 2010 ; 32 : 452-9.

OMS. *Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates*. Genève : Organisation mondiale de la santé, 2017 : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf

OMS. *Prévention du Suicide : L'état d'urgence mondial*. Genève : Organisation mondiale de la santé, 2012 : https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/131801/9789242564778_fre.pdf

Onwuameze OE, Paradiso S, Peek-Asa C, *et al*. Modifiable risk factors for depressed mood among farmers. *Ann Clin Psychiatry* 2013 ; 25 : 83-90.

Povey AC, McNamee R, Alhamwi H, *et al*. Pesticide exposure and screen-positive neuropsychiatric disease in British sheep farmers. *Environ Res* 2014 ; 135 : 262-70.

Serrano-Medina A, Ugalde-Lizarraga A, Bojorquez-Cuevas MS, *et al*. Neuropsychiatric disorders in farmers associated with organophosphorus pesticide exposure in a rural village of Northwest Mexico. *Int J Environ Res Public Health* 2019 ; 16.

Simsek Z, Keklik AZ, Demir C, *et al*. Prevalence and predictors of mental health

among farmworkers in Southeastern Anatolia of Turkey. *Int J Environ Agric Res* 2017 ; 3 : 21-9.

Takahashi N, Hashizume M. A systematic review of the influence of occupational organophosphate pesticides exposure on neurological impairment. *BMJ Open* 2014 ; 4 : e004798.

Weisskopf MG, Moisan F, Tzourio C, *et al*. Pesticide exposure and depression among agricultural workers in France. *Am J Epidemiol* 2013 ; 178 : 1051-8.

6
Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une affection neurologique caractérisée par une atrophie cérébrale accompagnée de plaques séniles (dépôts extracellulaires de peptide β-amyloïde) et de dégénérescence neurofibrillaire (accumulation de protéine Tau phosphorylée). Elle est la cause la plus fréquente de démence chez le sujet âgé, et peut affecter de 15 à 40 % des sujets de 85 ans et plus (Ankri et Poupard, 2003). En dehors de l'âge et du sexe féminin, le seul facteur de risque reconnu de la maladie est l'allèle epsilon 4 du gène codant pour l'apolipoprotéine E (APOE4). D'autres facteurs de risque sont suspectés parmi lesquels les traumatismes crâniens, la dépression, l'âge des parents, les antécédents familiaux de démence, les déficits en vitamine B12 ou en folates, les niveaux plasmatiques élevés en homocystéine ou encore les facteurs de risque vasculaires tels que l'hypertension artérielle. La proportion de cas familiaux est faible (de l'ordre de 10 %), ce qui suggère la possible contribution de facteurs environnementaux parmi lesquels les solvants, les champs électromagnétiques, le plomb, l'aluminium et les pesticides (Inserm, 2013).

Lors de la précédente expertise collective, seulement une dizaine d'études épidémiologiques explorant le lien entre pesticides et maladie d'Alzheimer avaient été identifiées. Les trois études de cohortes montraient une élévation de risque en lien avec l'exposition professionnelle aux pesticides, mais elles n'avaient cependant pas pu conclure pour des substances actives spécifiques. Le niveau de preuve avait été considéré limité.

Méta-analyses et revues

Dans la précédente expertise collective, une revue critique avait été identifiée concernant le lien entre expositions professionnelles et maladie d'Alzheimer, incluant six études publiées avant 2003 et traitant spécifiquement des expositions professionnelles aux pesticides, considérées comme le facteur professionnel le plus documenté à cette date par rapport à cette maladie (Santibáñez et coll., 2007).

Depuis la précédente expertise collective, trois autres revues ont été publiées, la première portant de manière large sur le rôle des contaminants environnementaux dans l'étiologie de la maladie d'Alzheimer et incluant aussi bien des données humaines qu'animales (Yegambaram et coll., 2015), la seconde sur le rôle d'expositions professionnelles dans la survenue de maladies neurodégénératives dont quatre études sur la maladie d'Alzheimer (Gunnarsson et Bodin, 2019) et la troisième sous la forme d'une méta-analyse d'études épidémiologiques ayant abordé le rôle des pesticides dans la maladie d'Alzheimer (Yan et coll., 2016). Les sept études incluses dans cette dernière méta-analyse de Yan et coll., avaient toutes été identifiées dans la précédente expertise collective : trois études de cohortes (France, États-Unis et Canada) et quatre études cas-témoins (Australie, États-Unis et Canada), et étaient jugées de bonne qualité par les auteurs. À partir de ces études, un *odds ratio* (OR) de 1,34 ; IC 95 % [1,08-1,67] a été calculé, sans qu'une hétérogénéité statistique entre les études ni de biais de publication ne soit mis en évidence.

Études de cohortes

Les résultats d'une étude de cohorte s'ajoutent aux trois identifiées dans l'expertise collective de 2013 (tableau 6.I, voir en fin de ce chapitre). Il s'agit d'une cohorte prospective mise en place dans un grand nombre de provinces canadiennes en 1991-1992, ayant inclus des personnes de 65 ans et plus, évaluées après un suivi de 5 et 10 ans vis-à-vis de la maladie d'Alzheimer (*Canadian Study of Health and Aging*). À noter qu'une partie de cette population avait été analysée selon un schéma cas-témoins lors de l'inclusion (CSHA, 1994). Pour une sous-population de cette cohorte, des échantillons de sang prélevés à l'inclusion permettaient de déterminer les taux de 11 organochlorés plasmatiques (rapportés aux lipides totaux plasmatiques). L'analyse incluant 574 cas de démences, identifiés aux différents temps de l'étude (inclusion et deux suivis), dont 399 patients de la maladie d'Alzheimer, n'a pas permis d'établir de lien avec les pesticides mesurés (Medehouenou et coll., 2014). Les analyses sur cette étude ont été complétées ultérieurement en employant un modèle statistique pour données répétées afin d'analyser la relation entre les dosages de pesticides et le déclin cognitif (Medehouenou et coll., 2019). Seuls les évènements de santé incidents (démences, maladie d'Alzheimer, déclin cognitif) ont alors été inclus dans les analyses. Il n'était pas mis en évidence de lien entre les concentrations plasmatiques en organochlorés et la survenue de démence (156 cas incidents dont 108 maladies d'Alzheimer). En revanche, les niveaux en p,p'-DDE étaient associés au déclin cognitif, en particulier chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer.

Études cas-témoins et transversales

Dans l'expertise collective de 2013, deux études avaient été prises en compte, l'une cas-témoins (Park et coll., 2005) et l'autre transversale (Schulte et coll., 1996). Elles reposaient sur des informations succinctes et de validité incertaine, extraites des certificats de décès dans une vingtaine d'États des États-Unis. Elles cherchaient à mettre en relation des professions agricoles avec la survenue de décès par maladies neurodégénératives, notamment la démence présénile et la maladie d'Alzheimer. Elles n'ont pu mettre en évidence de lien. Cependant, dans l'étude cas-témoins réalisée entre 1992 et 1998, Park et coll. (2005) ont observé des OR proches de 2 et statistiquement significatifs pour certaines catégories agricoles (chefs d'exploitations), en restreignant les analyses aux décès survenus avant 65 ans.

Deux nouvelles études cas-témoins ont été publiées en plus des quatre précédemment identifiées : la première aux États-Unis (Richardson et coll., 2014) et la seconde en Inde (Singh et coll., 2013) (tableau 6.I, voir en fin de ce chapitre). L'étude américaine a inclus 86 patients atteints de maladie d'Alzheimer et 79 témoins. Le DDE, un métabolite du DDT (un organochloré) a été déterminé d'une part dans des échantillons sériques et d'autre part dans des prélèvements cérébraux post-mortem pour un sous-échantillon de 11 patients. Un quadruplement du risque de maladie d'Alzheimer était observé chez les personnes présentant les valeurs de DDE sérique les plus élevées dans le dernier tercile (OR = 4,18 ; IC 95 % [2,54-5,82]) et une corrélation forte était observée entre le DDE sérique et la teneur de DDE dans les prélèvements cérébraux. En Inde, 70 patients atteints d'Alzheimer et 75 témoins ont été inclus dans une étude cas-témoins. Des mesures d'organochlorés sériques ont été réalisées : les valeurs étaient plus élevées chez les malades pour le β-HCH, la dieldrine et le p,p'-DDE.

Ces deux nouvelles études cas-témoins ont utilisé des critères internationaux validés pour la définition de la maladie d'Alzheimer. Elles disposaient de mesures biologiques de pesticides organochlorés mais n'avaient pas d'autres informations sur les expositions des personnes permettant d'éclairer ces valeurs. Il faut noter également que les patients atteints de démence perdent du poids pendant la phase prodromale de la pathologie et que les variations temporelles individuelles de la masse graisseuse peuvent rendre complexe l'interprétation des résultats (voir p. 57, Inserm, 2013).

Conclusion

Trois nouvelles études ont été publiées sur le lien entre pesticides et maladie d'Alzheimer depuis la précédente expertise collective, mais le nombre total d'études ne dépasse toujours pas la quinzaine. Les nouvelles études ont toutes tenté d'apprécier l'exposition des personnes aux organochlorés par des mesures biologiques, a priori en raison des difficultés spécifiques à reconstituer l'historique des expositions chez des personnes souffrant de troubles de la mémoire. Cependant, en l'absence d'information sur les expositions des individus (métiers ou activités exposantes), il n'est pas possible d'affirmer que ces mesures biologiques soient un bon reflet des expositions au cours de la vie des individus. Les conclusions de ces études ne sont pas toutes convergentes : la cohorte canadienne n'observe pas de lien avec les organochlorés mesurés dans le plasma alors que des liens sont observés dans les deux études cas-témoins. Le résultat le plus notable est sans doute celui de la méta-analyse, qui, en combinant les données de sept études déjà prises en compte en 2013, estime à 34 % l'élévation du risque – significative – de maladie d'Alzheimer chez les personnes exposées aux pesticides mais cela ne modifie pas la force de la présomption de lien qui était estimée « moyenne ».

Tableau 6.I : Maladie d'Alzheimer et exposition aux pesticides

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Diagnostic de la pathologie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats Discussion
Medehouenou et coll., 2014 *Canadian Study of Health and Aging* Canada	Cohorte prospective Inclusion en 1991-92 Deux suivis (en 1996-97 et en 2001-2002)	Provinces canadiennes (sauf Yukon et territoires Nord-Ouest, réserves indiennes et unités militaires) Personnes de 65 ans et +, tirées au sort sur les bases de l'assurance maladie (n = 10 263) À domicile (n = 9 008) ou en institution (n = 1 255)	mMMSE + diagnostic clinique si mMMSE < 78 % (à l'inclusion) ou < 90 (au 2e suivi) : DSM III-R NINCDS-ADRDA Diagnostic porté soit à l'inclusion soit à l'un des deux suivis	Détection de 7 des 11 OC ou métabolites chez plus de 90 % de la population Concentrations les plus élevées pour le p,p'-DDE (de l'ordre de 4 µg/l)	Auto-questionnaire à l'inclusion (facteurs de risque) chez les non-déments Mesure de 11 OC plasmatiques (+ PCB) : aldrine, mirex, chlordane [α,γ, oxy-], nonachlore [*cis* et *trans*], β-HCH, hexachlorobenzène, DDT et DDE Concentrations en OC rapportées aux lipides totaux plasmatiques	Période de collecte de l'échantillon Sexe, âge, niveau d'études, IMC, ApoE4 Résidence urbaine/rurale Tabac, alcool Score de risque vasculaire, lipides totaux	Échantillon de 2 023 sujets (prélèvement sanguin + examen clinique) : 574 démences dont 399 maladies d'Alzheimer Analyse seulement pour oxychlordane, nonachlore [*cis* et *trans*], β-HCH, HCB, DDT et DDE (car plus de 60 % des échantillons > LOD) Pas de lien mis en évidence (tendance même à une diminution du risque)
Medehouenou et coll., 2019 *Canadian Study of Health and Aging* Canada	Idem	Idem	Cas incidents de démences, de maladie d'Alzheimer et de déclin cognitif (au cours d'un suivi moyen de 5 ans) mMMSE + diagnostic clinique si mMMSE < 78 (à l'inclusion) ou < 90 (au 2e suivi) : DSM III-R NINCDS-ADRDA	Idem	Auto-questionnaire à l'inclusion (facteurs de risque) chez les non-déments Analyse chez ceux qui avaient une fonction cognitive normale lors du prélèvement : n = 669 sujets éligibles et dosages possibles Mesure de 11 OC plasmatiques (+ PCB) : aldrine, mirex, chlordane [α, γ, oxy-], nonachlore [*cis* et *trans*], β-HCH, hexachlorobenzène, DDT et DDE Mesure du cuivre, plomb, mercure et zinc Concentrations en OC rapportées aux lipides totaux plasmatiques Prise en compte des mesures répétées par un modèle statistique adapté	Période de suivi Sexe, âge, niveau d'études, IMC, ApoE4 Résidence urbaine/rurale Tabac, alcool Score de risque vasculaire Lipides totaux Cuivre, plomb, mercure, zinc	156 cas incidents de démence dont 108 maladies d'Alzheimer Concentrations plasmatiques en OC non associées à la survenue de démence ou de maladie d'Alzheimer (mais plus de relation inverse) Concentrations en DDE associées au déclin cognitif en particulier chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer

Tableau 6.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Diagnostic de la pathologie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Tiers facteurs	Résultats Discussion
Richardson et coll., 2014 États-Unis (Texas et Géorgie)	Cas-témoins	Université du Texas et Université Emory Patients pris en charge pour une maladie d'Alzheimer n = 86 Témoins n = 79	Cas : NINCDS-ADRDA Témoins : MMSE entre 28 et 30, pas d'anomalie à l'IRM et/ou examen normal, ou batterie tests normale	Détection de DDE dans le sang chez 70 % des témoins et 80 % des cas Moyenne chez les cas : 2,64 ng/mg cholestérol	Échantillon sang pour mesure DDE sérique (métabolite DDT) Prélèvement cerveau post-mortem dans un sous-échantillon, avec échantillon sanguin préalable (n = 11)	ApoE4 Âge, sexe, lieu de résidence, race, niveau d'études	Risque de maladie dans le 3e tercile du niveau de DDE : OR = 4,18 ; IC 95 % [2,54-5,82] Baisse du score MMSE dans le 3e tercile/DDE Corrélation forte entre teneur DDE sang et dans le cerveau (n = 11) ρ = 0,95
Singh et coll., 2013 Inde	Cas-témoins	Service de neurologie à Dehli, 2010-11 Personnes de 50 à 85 ans Exclusion si histoire AVC, épilepsie, trauma crânien,...	Patients n = 70 NINCDS-ADRDA IRM, CT, PET MMS 0-23 *Clinical Dementia Rating score* $\geq$ 0,5 Témoins appariés sur l'âge, n = 75	p,p'-DDE : 41 % des cas et 23 % des témoins 2,52 ng/ml chez les cas β-HCH : 60 % cas, 16 % témoins 4,16 ng/ml chez les cas Dieldrine : 50 % cas, 9 % témoins 4,82 ng/ml chez les cas	Échantillon de sang pour mesure de plusieurs OC : aldrine, dieldrine, endosulfan (α,β), HCH (α, β, γ), DDE (pp'), DDE (o,p'), DDT (o,p'), DDD (pp', op')	Sexe, âge, niveau études, habitat urbain/rural, habitudes alimentaires, alcool	Élévation des niveaux de β-HCH, dieldrine et p,p'-DDE chez les patients atteints d'Alzheimer DDE (o,p'), DDT (o,p'), DDD (pp', op') n'ont pas été détectés.

DSM-III-R : *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Third Edition, Revised* ; IMC : Indice de masse corporelle ; mMMSE : *Modified Mini-Mental State Examination* ; NINCDS-ADRDA : *National Institute of Neurological and Communicative Diseases and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* ; OC : organochlorés

RÉFÉRENCES

• Étude financée par un industriel des phytosanitaires

Ankri J, Poupard M. Prevalence and incidence of dementia among the very old. Review of the literature. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2003 ; 51 : 349-60.

CSHA. The Canadian Study of Health and Aging: risk factors for Alzheimer's disease in Canada. *Neurology* 1994 ; 44 : 2073-80.

Gunnarsson L-G, Bodin L. Occupational exposures and neurodegenerative diseases-A systematic literature review and meta-analyses. *Int J Environ Res Public Health* 2019 ; 16 : E337.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1 001 p.

Medehouenou TCM, Ayotte P, Carmichael P-H, *et al*. Exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides and risk of dementia, Alzheimer's disease and cognitive decline in an older population : a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging. *Environ Health* 2019 ; 18 : 57. •

Medehouenou TCM, Ayotte P, Carmichael P-H, *et al*. Plasma polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide concentrations in dementia: the Canadian Study of Health and Aging. *Environ Int* 2014 ; 69 : 141-7. •

Park RM, Schulte PA, Bowman JD, *et al*. Potential occupational risks for neurodegenerative diseases. *Am J Ind Med* 2005 ; 48 : 63-77.

Richardson JR, Roy A, Shalat SL, *et al*. Elevated serum pesticide levels and risk for Alzheimer disease. *JAMA Neurol* 2014 ; 71 : 284-90.

Santibáñez M, Bolumar F, García AM. Occupational risk factors in Alzheimer's disease: a review assessing the quality of published epidemiological studies. *Occup Environ Med* 2007 ; 64 : 723-32.

Schulte PA, Burnett CA, Boeniger MF, *et al*. Neurodegenerative diseases: occupational occurrence and potential risk factors, 1982 through 1991. *Am J Public Health* 1996 ; 86 : 1281-8.

Singh N, Chhillar N, Banerjee B, *et al*. Organochlorine pesticide levels and risk of Alzheimer's disease in north Indian population. *Hum Exp Toxicol* 2013 ; 32 : 24-30.

Yan D, Zhang Y, Liu L, *et al*. Pesticide exposure and risk of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 32222.

Yegambaram M, Manivannan B, Beach TG, *et al*. Role of environmental contaminants in the etiology of Alzheimer's disease : a review. *Curr Alzheimer Res* 2015 ; 12 : 116-46.

7
Maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est la maladie neurodégénérative la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer. Elle est liée à la perte progressive des neurones dopaminergiques d'une structure mésencéphalique impliquée dans la régulation de l'activité des noyaux gris centraux, la *substantia nigra pars compacta*, qui joue un rôle important dans le contrôle de la motricité. Cette perte neuronale est caractérisée par la présence d'inclusions neuronales typiques (corps de Lewy) et l'agrégation de la protéine α-synucléine.

La maladie de Parkinson est caractérisée par l'association de quatre symptômes moteurs cardinaux : tremblement de repos, rigidité extrapyramidale, lenteur du mouvement, instabilité posturale. Ces signes ont fréquemment un caractère asymétrique. Bien que le plus souvent associés, certains d'entre eux peuvent être absents, en particulier au début de l'évolution de la maladie. Des symptômes non moteurs sont également fréquents (troubles de l'humeur, constipation, troubles du sommeil paradoxal, perte de l'odorat, déclin cognitif...) (Chaudhuri et coll., 2006). Certains peuvent apparaître au cours de l'évolution de la maladie (par exemple, déclin cognitif), tandis que d'autres (par exemple, anosmie, constipation, troubles de l'humeur ou du sommeil paradoxal) peuvent être présents d'emblée voire des années avant l'apparition des signes moteurs (Savica et coll., 2018).

D'après les études d'imagerie cérébrale, l'apparition des signes moteurs est précédée d'une période préclinique (estimée de 3 à 7 ans) pendant laquelle la perte neuronale dopaminergique progresse au niveau de la *substantia nigra* pour atteindre environ 70 % lorsque les signes moteurs apparaissent. Plus récemment, des études de cohorte ont montré que certains symptômes prémoteurs (anosmie, constipation, troubles du sommeil paradoxal), traduisant une atteinte d'autres structures (respectivement : bulbe olfactif, tube digestif, *locus cœruleus*), peuvent exister longtemps avant l'apparition des signes moteurs, même 20 ans d'après certaines études (Savica et coll., 2018). Certains auteurs ont émis l'hypothèse d'une évolution ascendante de la maladie au cours de la phase prodromique, avec une porte d'entrée digestive ou à partir du bulbe olfactif et une extension ascendante de l'agrégation de

l'α-synucléine le long du nerf vagal jusqu'au cerveau (Borghammer, 2018 ; Scheperjans et coll., 2018).

En dehors de rares formes familiales liées à des mutations de gènes majeurs, les causes de la maladie de Parkinson sont inconnues. Elle est généralement considérée comme étant une maladie multifactorielle, résultant dans la majorité des cas de l'effet de facteurs multiples, qu'ils soient génétiques (Chang et coll., 2017) ou environnementaux. Il existe une association positive avec l'exposition aux solvants ou la consommation de produits laitiers, tandis qu'il existe une association inverse avec le tabagisme, la consommation de café, l'uricémie, la cholestérolémie, ou encore l'activité physique (Bellou et coll., 2016). Toutefois, il n'est pas possible d'exclure formellement un biais de causalité inverse pour expliquer certaines de ces associations en raison de la longue période prodromique (Elbaz, 2016). Enfin, quelques études rapportent des interactions gène-environnement qui illustrent l'hypothèse selon laquelle l'association avec certains facteurs d'environnement pourrait, dans certains cas, dépendre du patrimoine génétique (Polito et coll., 2016).

À partir des bases de données de l'Assurance maladie, on estime que près de 170 000 personnes étaient traitées en France pour une maladie de Parkinson en 2015 (prévalence = 2,50 pour 1 000 personnes) et qu'il y a environ 25 000 nouveaux cas traités chaque année (incidence brute = 0,39 pour 1 000 personnes-années) (Moisan et coll., 2018). L'incidence de la maladie de Parkinson est dans l'ensemble 1,5 fois plus élevée chez les hommes que chez les femmes ; cette différence dépend de l'âge : le ratio est proche de 1 avant 50 ans et augmente progressivement avec l'âge jusqu'à 1,6 après 80 ans. Cette évolution peut suggérer que des facteurs génétiques jouent un rôle plus important chez les patients les plus jeunes, tandis que le poids de facteurs environnementaux dont l'effet ou la fréquence dépend du sexe augmente avec l'âge (Moisan et coll., 2016). Compte tenu de l'allongement de l'espérance de vie et d'après des projections réalisées sous l'hypothèse d'une incidence constante, il est prévu que le nombre de cas prévalents augmente progressivement pour atteindre 260 000 en 2030, soit environ 1 personne sur 120 parmi les plus de 45 ans (Wanneveich et coll., 2018).

Le lien entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la maladie de Parkinson a été présenté en détail dans l'expertise collective « Pesticides : Effets sur la santé » en 2013 qui comprenait également un chapitre consacré aux mécanismes d'action des pesticides dans la maladie de Parkinson (Inserm, 2013). Après un rappel des conclusions de l'expertise réalisée en 2013, notre objectif a été de faire une mise à jour à partir des études qui ont été publiées depuis. Tandis que la précédente expertise portait principalement sur

l'exposition professionnelle, des études sur l'exposition non professionnelle sont maintenant disponibles et les résultats sont présentés dans ce chapitre.

Conclusions de l'expertise collective « Pesticides : Effets sur la santé » de l'Inserm en 2013

L'expertise collective « Pesticides : Effets sur la santé » de l'Inserm en 2013 avait principalement examiné la littérature sur la relation entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la maladie de Parkinson. Elle concluait à l'existence d'une association entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la maladie de Parkinson, mais il était plus difficile de conclure quant à l'effet de pesticides spécifiques. Dans ses rapports de 2013 et 2016, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa) arrivait à la même conclusion (Ntzani et coll., 2013 ; Choi et coll., 2016).

Il existait toutefois une hétérogénéité des résultats des études en fonction de la méthode d'évaluation de l'exposition. Quelques études avec une évaluation plus détaillée de l'exposition aux pesticides permettaient de montrer une relation dose-effet. D'après la méta-analyse la plus complète et détaillée disponible à cette date (van der Mark et coll., 2012), l'association était plus particulièrement présente pour les herbicides et les insecticides. Parmi les insecticides, plusieurs études retrouvent des arguments en faveur d'une association avec les insecticides organochlorés. Des analyses réalisées dans le cadre de *l'Agricultural Health Study* montraient une association avec l'exposition aux pesticides en les regroupant en fonction de deux mécanismes impliqués dans la maladie de Parkinson, le stress oxydant et l'inhibition du complexe I mitochondrial (Tanner et coll., 2011). Dans chaque groupe, une association avec un pesticide spécifique a été observée, le paraquat et la roténone respectivement. Quant aux fongicides, bien que la méta-analyse n'ait pas retrouvé d'association, peu d'études avaient porté sur ces produits et l'expertise avait conclu au besoin d'études complémentaires.

Peu d'études avaient porté sur le rôle de l'exposition non professionnelle aux pesticides mais des résultats obtenus en Californie en combinant les lieux de résidence avec un registre de ventes de pesticides grâce à des systèmes d'information géographique étaient en faveur d'une augmentation du risque de maladie de Parkinson chez les personnes vivant ou travaillant à proximité (< 500 mètres) de champs traités par pesticides, le plus souvent par voie aérienne (Costello et coll., 2009 ; Wang et coll., 2011).

La revue de la littérature toxicologique retrouvait des arguments en faveur du rôle de certains pesticides (paraquat, roténone, manèbe) ou familles de

pesticides (insecticides organochlorés, pyréthrinoïdes, organophosphorés) dans différents mécanismes impliqués dans l'étiologie de la maladie de Parkinson (stress oxydant et dysfonctionnement mitochondrial, activation du métabolisme de la dopamine, formation d'agrégats cytoplasmiques d'α-synucléine, apoptose).

Mise à jour des données

Revues et méta-analyses

Plusieurs revues (Freire et Koifman, 2012 ; Mandel et coll., 2012 ; Moretto et Colosio, 2013 ; Hernandez et coll., 2016 ; Nandipati et Litvan, 2016 ; Cao et coll., 2018 ; Kanthasamy et coll., 2019) et méta-analyses (Allen et Levy, 2013 ; Pezzoli et Cereda, 2013 ; Breckenridge et coll., 2016 ; Ahmed et coll., 2017 ; Gunnarsson et Bodin, 2017 ; Yan et coll., 2018 ; Gunnarsson et Bodin, 2019 ; Tangamornsuksan et coll., 2019 ; Vaccari et coll., 2019) ont été publiées depuis la précédente expertise collective (tableau 7.I, voir en fin de ce chapitre). Des critères d'inclusion différents dans les méta-analyses expliquent quelques différences entre leurs résultats quantitatifs mais, dans l'ensemble, toutes confirment l'existence d'une association entre l'exposition aux pesticides, principalement d'origine professionnelle, et la maladie de Parkinson et n'apportent pas d'élément nouveau par rapport aux méta-analyses discutées dans l'expertise collective de 2013 (Priyadarshi et coll., 2000 ; van der Mark et coll., 2012 ; Van Maele-Fabry et coll., 2012). Les exceptions sont deux méta-analyses sur le paraquat (Tangamornsuksan et coll., 2019 ; Vaccari et coll., 2019) qui montrent des associations significatives (tableau 7.I, voir en fin de ce chapitre) ainsi qu'une revue également sur le paraquat (Mandel et coll., 2012) et une méta-analyse (Breckenridge et coll., 2016), toutes deux financées par l'industrie des produits phytopharmaceutiques, qui étaient plus critiques et émettaient des réserves sur cette association.

Exposition professionnelle

Depuis l'expertise collective Inserm de 2013, six nouvelles études ont porté sur la relation entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la maladie de Parkinson, trois études françaises (une étude cas-témoins, deux études de cohorte), deux études néerlandaises (cas-témoins et cohorte) et une étude américaine (cas-témoins).

Études en France

En France, dans l'étude cas-témoins PARTAGE réalisée parmi les affiliés à la Mutualité sociale agricole (MSA) de cinq départements (Charente-Maritime, Côte-d'Or, Gironde, Haute-Vienne, Mayenne), les cas (taux d'acceptation = 83 %) ont été identifiés à partir des bases de consommation de médicaments et d'affection longue durée (ALD n° 16) (Moisan et coll., 2015). Le diagnostic de maladie de Parkinson a été validé après un examen clinique par des neurologues spécialisés dans les mouvements anormaux. Chaque cas a été apparié à deux témoins tirés au sort parmi les affiliés à la MSA (taux d'acceptation = 76 %). Un questionnaire portant sur l'historique professionnel, la description des exploitations agricoles et les tâches effectuées a été renseigné et expertisé par un hygiéniste industriel et un ingénieur agricole en aveugle du statut cas ou témoin, ce qui a permis d'explorer trois classes de pesticides (herbicides, fongicides, insecticides) et différents types de cultures, mais pas de substances actives spécifiques. Les analyses ont porté sur les hommes agriculteurs (exploitants et salariés) ayant personnellement épandu des pesticides (133 cas, 298 témoins) et seules les expositions ayant eu lieu plus de 5 ans avant la survenue de la maladie de Parkinson ont été prises en compte. Les analyses ont été ajustées sur des facteurs de confusion et sur un indicateur de la fonction cognitive car les moins bonnes performances cognitives des cas par rapport aux témoins auraient pu entraîner un biais de rappel. En prenant pour référence les participants exposés peu de temps et avec une faible intensité, l'association la plus forte était retrouvée pour les personnes exposées aux pesticides longtemps (> 37 ans) et avec une intensité élevée (nombre moyen annuel d'applications ≥ 6,04 : OR = 3,08 ; IC 95 % [1,51-6,27]). L'association était moins forte pour les personnes exposées avec une intensité élevée mais pendant peu de temps (OR = 1,47 ; IC 95 % [0,72-3,00]), tandis qu'il n'existait pas d'association pour les personnes exposées longtemps mais de manière peu intense (OR = 0,75 ; IC 95 % [0,37-1,53], p-interaction = 0,04). Pour un indicateur d'exposition cumulée (nombre d'applications tout au long de la vie), l'association était plus marquée pour les insecticides et les fongicides alors qu'elle était absente pour les herbicides, et leurs effets étaient indépendants, avec à nouveau un effet plus important pour l'intensité que la durée. En matière de cultures, les cas étaient plus souvent exposés aux pesticides que les témoins dans des exploitations dont l'activité principale était la viticulture ; il n'existait pas de différence pour les autres types de cultures. Les cas de maladie de Parkinson ont été classés en 4 sous-types (tremblement prédominant, tremblement non prédominant, début précoce, indéterminé). Les associations décrites dans l'ensemble étaient présentes et renforcées pour le sous-groupe « tremblement prédominant » qui correspond à la forme la plus classique de maladie de

Parkinson. Une des limites de cette étude est de ne pas avoir inclus de femmes en raison de la difficulté à évaluer l'exposition aux pesticides chez ces dernières. De plus, il s'agissait de cas prévalents avec une durée moyenne d'évolution de 6 ans au moment de l'étude ; des analyses limitées aux cas ayant moins de 3 ans de durée d'évolution retrouvaient des résultats similaires. Enfin, l'exposition aux pesticides était évaluée d'après le rappel des participants, ce qui a pu conduire à des erreurs de classement sur l'exposition, notamment en raison des troubles cognitifs plus fréquents chez les patients parkinsoniens ; toutefois, l'ajustement sur un test cognitif ou des analyses limitées aux patients ayant une durée d'évolution plus courte aboutissaient aux mêmes conclusions.

Toujours en France, une étude de cohorte réalisée à partir des bases de données de l'Assurance maladie ne s'est pas intéressée spécifiquement à l'exposition aux pesticides mais a eu pour objectif de comparer l'incidence de la maladie de Parkinson parmi les affiliés à la MSA à celle observée parmi les affiliés aux autres régimes d'Assurance maladie afin de déterminer s'il existait une sur-incidence de la maladie de Parkinson parmi les agriculteurs français (Kab et coll., 2017b). Les cas de maladie de Parkinson ont été identifiés à l'aide d'un algorithme qui reposait principalement sur les profils de prescriptions de médicaments antiparkinsoniens et qui avait été validé par rapport à un examen neurologique avec de bonnes performances (aire sous la courbe = 0,953) (Moisan et coll., 2011). L'incidence corrigée pour la sensibilité (92,5 %) et spécificité (86,4 %) de l'algorithme a été estimée en 2011-2012 parmi les affiliés à la MSA (dans l'ensemble et en tenant compte du statut exploitant ou salarié) et aux autres régimes de l'Assurance maladie âgés de 55 ans et plus. Chaque année, environ 2 500 (75 % exploitants, 25 % salariés) et 20 000 cas incidents de maladie de Parkinson ont été identifiés parmi les affiliés à la MSA et aux autres régimes d'Assurance maladie respectivement. Après ajustement sur l'âge et le sexe, l'incidence était 1,09 ; IC 95 % [1,05-1,13] fois plus élevée à la MSA que dans les autres régimes ; cette différence était attribuable aux exploitants (RR = 1,13 ; IC 95 % [1,08-1,17]) tandis qu'il n'y avait pas de différence significative pour les salariés (RR = 1,03 ; IC 95 % [0,96 -1,09]). En conséquence, l'incidence de la maladie de Parkinson était plus élevée chez les exploitants que chez les salariés (RR = 1,10 ; IC 95 % [1,02-1,18]). Ces différences diminuaient un peu mais demeuraient significatives après ajustement externe sur le tabagisme. Ces résultats sont cohérents avec une méta-analyse montrant une association entre le métier d'agriculteur et la maladie de Parkinson (Pezzoli et Cereda, 2013). La différence entre exploitants et salariés est probablement expliquée par le fait que les salariés affiliés à la MSA représentent un groupe hétérogène, comprenant les ouvriers agricoles et d'autres travailleurs peu

exposés aux pesticides (employés administratifs notamment). De plus, en France, dans le passé et pour la majorité des cultures, les exploitants agricoles étaient traditionnellement plus impliqués dans la réalisation des traitements pesticides que les salariés agricoles (Baldi et coll., 2012 ; Anses, 2016). Même si l'exposition professionnelle aux pesticides peut contribuer à expliquer cette association, on ne peut exclure que d'autres facteurs liés au mode de vie, au métier ou à l'environnement agricole pourraient être impliqués. Les principales limites de cette étude sont liées au manque d'informations sur des facteurs de confusion et à l'imprécision de certaines informations. Par exemple, les bases de données de l'Assurance maladie ne contiennent pas d'informations sur le type d'activités agricoles des exploitants, et il n'est pas possible de distinguer parmi les salariés, les ouvriers agricoles des employés administratifs.

La cohorte française AGRICAN a inclus, entre 2005 et 2007, 181 842 affiliés à la MSA âgés de plus de 18 ans, ayant cotisé pendant au moins 3 ans et qui résidaient dans un des 11 départements couverts par un registre général ou spécialisé de cancers. Les cas prévalents de maladie de Parkinson (n = 1 732) ont été identifiés à l'inclusion d'après l'auto-déclaration (diagnostic de maladie de Parkinson par un médecin) de 82,4 % des participants (n = 149 810) (Pouchieu et coll., 2018). L'historique professionnel a été recueilli par auto-questionnaire, avec notamment une description des cultures et élevages pour les agriculteurs (dates, tâches réalisées, comprenant le traitement des cultures et les tâches de ré-entrées) et des antécédents d'intoxication aiguë par des pesticides. L'exposition aux pesticides a été évaluée à l'aide de la matrice culture-exposition PESTIMAT (Baldi et coll., 2017). Elle fournit des estimations de la probabilité, fréquence et intensité d'exposition en fonction des principales cultures depuis 1950 qui ont été établies à partir de 5 sur 22 régions françaises (correspondant à 25 % de la surface agricole utile totale). Les auteurs se sont intéressés à certains pesticides évoqués dans la littérature sur la maladie de Parkinson : fongicides dithiocarbamates (cuprèbe, ferbame, cuprobame, mancopper, mancozèbe, manèbe, métirame, propinèbe, thirame, zinèbe, zirame), herbicides bipyridyles (diquat, paraquat) et un insecticide (roténone). Les indicateurs d'exposition calculés n'ont pas tenu compte de la date de début de la maladie de Parkinson, mais seulement 5,2 % des cas avaient développé la maladie avant 60 ans (âge de la retraite). Les analyses ont été ajustées sur les facteurs de confusion suivants : âge, sexe, niveau d'études, tabagisme et consommation d'alcool. Les cas avaient été plus souvent exposés que les autres participants à pratiquement toutes les cultures et élevages, et un risque augmenté de maladie de Parkinson a été retrouvé pour les participants exposés aux pesticides pour toutes les cultures sauf le tabac. Des analyses limitées aux salariés

retrouvaient des résultats similaires. Dans les analyses considérant les matières actives une à une, une association existait pour les 14 pesticides. Lorsque les analyses étaient ajustées sur le fait d'avoir été exposé à au moins un autre des pesticides (sans distinction), une association significative existait uniquement pour le zinèbe (1,48 [1,06-2,07] et le zirame (1,42 [1,02-1,97]). Dans des analyses prenant en compte la durée d'exposition, une tendance significative existait pour 7 des 14 matières actives ; lorsque les analyses étaient ajustées sur l'exposition à au moins un autre pesticide (sans distinction), la tendance était significative pour le mancopper (p = 0,04), il n'existait pas de tendance pour le zinèbe et le zirame ; aucun des *odds ratios* pour le tercile supérieur n'était statistiquement significatif, mais l'*odds ratio* était à la limite de la significativité (1,63 [0,99-2,67]) pour le mancopper.

Études en Europe et aux États-Unis

Aux Pays-Bas (van der Mark et coll., 2014), une étude cas-témoins hospitalière a inclus des cas incidents de maladie de Parkinson (n = 444) suivis dans 5 hôpitaux, qui ont été appariés à deux témoins chacun (n = 876) ; les témoins étaient recrutés dans les services de neurologie parmi les patients suivis pour un syndrome du canal carpien, une compression du nerf cubital, une hernie discale ou une sciatique. Le taux d'acceptation était de 45 % chez les cas et de 35 % chez les témoins. Les participants ont été interrogés par téléphone sur leur historique professionnel et l'application de pesticides (insecticides, fongicides, herbicides ; oui/non ; dates de début et fin ; nombre de jours de traitement par an ; méthode d'application ; matériel de protection ; types de cultures dans la ferme – au maximum 3). À partir de 1955, l'exposition aux pesticides a été déterminée de trois manières différentes : *i*) utilisation d'une matrice emploi-exposition déterminant la probabilité d'exposition aux pesticides, insecticides, fongicides et herbicides pour chaque métier ; des indices cumulés ont été calculés en multipliant ces probabilités par la durée du métier ; *ii*) pour les agriculteurs et jardiniers uniquement, adaptation d'un algorithme développé par *l'Agricultural Health Study* déterminant la probabilité d'exposition aux insecticides, herbicides et fongicides ; cet algorithme a l'avantage de prendre en compte l'exposition pendant les tâches de ré-entrée ; *iii*) exposition à des substances spécifiques grâce à une matrice culture-exposition construite à partir de l'avis d'experts (probabilité et fréquence d'exposition) (Brouwer et coll., 2018) ; les substances prises en compte étaient déterminées a priori sur la base d'études antérieures sur la maladie de Parkinson : insecticides (dichlorvos, lindane, parathion, perméthrine), herbicides (2,4-D, atrazine, dinosèbe, paraquat), fongicides (bénomyl, manèbe). L'exposition aux endotoxines a été évaluée grâce à une autre matrice emploi-exposition et n'était pas associée avec la maladie de

Parkinson. Bien que les cas aient eu plus souvent des niveaux élevés d'exposition que les témoins, il n'existait pas d'association significative entre l'exposition aux pesticides, quelle que soit la famille, et la maladie de Parkinson d'après les approches 1 et 2 d'estimation de l'exposition. Avec la troisième approche, une association significative était présente pour la catégorie d'exposition au bénomyl la plus élevée (OR = 2,47 ; IC 95 % [1,05-5,78]) ; les *odds ratios* étaient élevés pour la catégorie d'exposition la plus haute pour plusieurs autres pesticides, mais de manière non significative (par exemple, perméthrine : OR = 1,60 ; IC 95 % [0,60-4,30] ; 2,4-D : OR = 1,68 ; IC 95 % [0,81-3,49]). Les analyses pour une matière active ne tenaient pas compte de l'exposition aux autres matières actives. Deux études précédentes avaient étudié le bénomyl, un inhibiteur de l'enzyme aldéhyde déshydrogénase qui induit des lésions des neurones dopaminergiques *in vitro* et *in vivo* ; dans l'*Agricultural Health Study* (Tanner et coll., 2011), l'*odds ratio* était de 1,9 (IC 95 % [0,7-5,0]) tandis qu'une étude californienne retrouvait une association pour l'exposition environnementale sur le lieu de travail mais pas au domicile (Fitzmaurice et coll., 2013). Les auteurs mentionnent que leur analyse est limitée par le faible nombre de sujets exposés, notamment aux pesticides sélectionnés pour la troisième approche, ce qui conduit à une faible puissance statistique. L'utilisation des matrices conduit à un risque de classement non-différentiel, contribuant possiblement à diminuer des associations potentielles. Le taux de participation relativement faible est également une limite ; les auteurs rapportent que les *odds ratios* étaient généralement plus élevés dans des analyses réalisées chez les sujets âgés de moins de 70 ans chez qui le taux d'acceptation était plus élevé (66 % chez les cas et 39 % chez les témoins). Le choix de témoins hospitaliers représente également une limite que les auteurs ont prise en compte en réalisant des analyses de sensibilité qui excluaient successivement les témoins qui avaient l'une des pathologies, avec des résultats similaires.

Également aux Pays-Bas, une cohorte nationale de 58 279 hommes et 62 573 femmes (*Netherlands Cohort Study on diet and cancer*) âgés de 55 à 69 ans à l'inclusion et suivis pendant 17,3 ans a permis d'identifier 402 hommes et 207 femmes dont le certificat de décès comportait comme cause principale ou secondaire la maladie de Parkinson (Brouwer et coll., 2015). L'exposition aux pesticides a été déterminée grâce à une matrice emploi-exposition. Après ajustement sur l'âge, le tabagisme, l'activité physique et l'indice de masse corporelle, parmi les hommes, il existait une augmentation non significative du risque de décès avec maladie de Parkinson pour les personnes ayant été exposées faiblement (22 cas exposés ; RR = 1,35 ; IC 95 % [0,81-2,26]) ou plus fortement (42 cas exposés ; RR = 1,27 ; IC 95 % [0,86-1,88]) aux pesticides. Les risques relatifs observés

sont de l'ordre de celui estimé par une méta-analyse des études de cohorte (RR = 1,39) (van der Mark et coll., 2012). Après prise en compte de la durée d'exposition, il existait une association significative pour le premier tercile, mais pas pour le deuxième et le troisième, et le test de tendance n'était pas statistiquement significatif (p = 0,44) ; l'association avec le premier tercile était principalement expliquée par une association significative avec l'exposition aux insecticides dans cette catégorie. Le nombre de femmes exposées était insuffisant pour ces analyses. Cette étude définit la maladie de Parkinson à partir des certificats de décès, ce qui conduit à sous-estimer le nombre de cas. En effet, le diagnostic de maladie de Parkinson serait indiqué sur les certificats de décès pour environ 50 % des patients parkinsoniens (Paulson et Gill, 1995 ; Goldacre et coll., 2010 ; Benito-León et coll., 2014). D'après les auteurs, le défaut de sensibilité de la méthode d'identification des cas conduit à diminuer la puissance statistique pour détecter une association. L'utilisation d'une matrice emploi-exposition, même si elle a des avantages, conduit également à des erreurs de classement, probablement non différentielles, et à diminuer la force d'une association potentielle.

En Californie, l'étude cas-témoins qui a été la première à identifier une association entre l'exposition environnementale aux pesticides et la maladie de Parkinson (Costello et coll., 2009 ; Wang et coll., 2011) s'est aussi intéressée au rôle de l'exposition professionnelle aux pesticides (Narayan et coll., 2017). Les investigateurs ont recueilli l'historique professionnel de 360 cas (ayant trois ans ou moins de durée d'évolution et dont le diagnostic a été confirmé après examen clinique par un neurologue) et 827 témoins ; il incluait notamment l'utilisation de pesticides dans le cadre professionnel, le type (insecticides, herbicides, fongicides) et le nom commercial des produits, leur cible (culture, élevage), les tâches effectuées et l'utilisation d'équipements de protection. L'exposition environnementale au domicile ou sur le lieu de travail à 4 familles de pesticides (organochlorés, organophosphorés, dithiocarbamates, paraquat) (Costello et coll., 2009 ; Wang et coll., 2011) et l'exposition domestique (à domicile, jardinage) (Narayan et coll., 2013) ont été prises en compte dans les analyses, de même que l'âge, le sexe, le tabagisme, le niveau d'études et l'origine ethnique. Il existait une association avec l'exposition professionnelle aux pesticides pendant plus de 10 ans (OR = 1,69 ; IC 95 % [1,01-2,83]) ; cette association était plus forte pour les herbicides (OR = 2,07 ; IC 95 % [1,12-3,85]) que pour les insecticides (OR = 1,45 ; IC 95 % [0,79-2,65]) et fongicides (OR = 1,46 ; IC 95 % [0,66-3,23]). Parmi trois catégories de pesticides sélectionnés a priori, les auteurs ont retrouvé une association pour les carbamates (OR = 3,15 ; IC 95 % [1,07-9,25]), mais pas pour les insecticides organochlorés (OR = 1,17 ; IC 95 % [0,51-2,68]) ou organophosphorés

(OR = 1,01 ; IC 95 % [0,52-1,95]) ; toutefois, très peu de sujets étaient exposés à ces produits (2,8 à 4,4 % des cas et 0,7 à 3,8 % des témoins) et les analyses n'étaient pas ajustées sur l'utilisation d'autres pesticides. Par rapport aux personnes non exposées professionnellement aux pesticides, les personnes exposées qui n'utilisaient pas d'équipement de protection (gants, masques, combinaisons) avaient un risque de maladie de Parkinson modérément élevé (OR = 1,33 ; IC 95 % [0,80-2,21]), ainsi que celles qui en utilisaient parfois (OR = 1,40 ; IC 95 % [0,79-2,45]) et celles qui en utilisaient toujours un risque plus élevé (OR = 2,21 ; IC 95 % [1,14-4,30]). Ces résultats ne sont pas cohérents avec ceux de deux autres études sur la maladie de Parkinson qui retrouvaient un effet protecteur (Furlong et coll., 2015) ou pas d'effet (Hancock et coll., 2008). L'une des limites de cette étude est liée à l'évaluation de l'exposition aux pesticides qui reposait sur le rappel des participants. Une autre limite est que le taux de participation des témoins (38 %) était considérablement inférieur à celui des cas (79 %).

Exposition environnementale

L'expertise collective de 2013 avait pointé le manque d'études sur le rôle de l'exposition non professionnelle aux pesticides et depuis, huit études ont été réalisées (cas-témoins et écologiques).

En 2013, seules les études cas-témoins à partir du registre de ventes de pesticides en Californie étaient disponibles (Costello et coll., 2009 ; Wang et coll., 2011). L'exposition environnementale aux pesticides était évaluée en combinant les lieux de résidence et de travail avec un registre de ventes de pesticides, grâce à un système d'information géographique (région de l'étude *Central Valley of California*). Les cas et témoins étaient considérés exposés si des traitements pesticides étaient réalisés dans un rayon de 500 mètres autour du lieu d'habitation. Les participants (368 cas, 341 témoins) exposés à la fois au paraquat (herbicide) et au manèbe (fongicide) avaient un risque 1,75 fois plus élevé de maladie de Parkinson par rapport aux participants non exposés, tandis qu'il n'existait pas d'association en cas d'exposition à un seul des deux produits (Costello et coll., 2009). Dans une autre étude, prenant en compte l'exposition autour du lieu d'habitation et du lieu de travail, les mêmes auteurs ont rapporté une association entre la maladie de Parkinson et la co-exposition au paraquat, manèbe et zirame (362 cas, 341 témoins), avec une association plus forte pour les expositions à proximité du lieu de travail que pour celles à proximité du domicile (Wang et coll., 2011).

D'autres pesticides ont été examinés depuis par les mêmes auteurs. Dans une étude cas-témoins spécifique sur les insecticides organophosphorés (357 cas, 752 témoins) (Wang et coll., 2014), 36 organophosphorés ont été considérés

individuellement. Il existait une association positive entre l'exposition et la maladie de Parkinson pour 26 d'entre eux (10 n'ont pas été inclus dans l'analyse car trop peu de participants avaient été exposés) après ajustement sur l'exposition aux organochlorés, aux dithiocarbamates et au paraquat. Les auteurs ont classé les organophosphorés dans différents groupes non exclusifs selon leurs mécanismes d'action (inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, toxicité aiguë importante, tératogènes, perturbateurs endocriniens, carcinogènes, perturbation de la fonction mitochondriale), et il existait une augmentation du risque de maladie de Parkinson pour tous les groupes, ce qui conduit les auteurs à conclure que les mécanismes qui expliqueraient l'association entre l'exposition à ces composés et la maladie de Parkinson demeurent inconnus.

Dans une autre étude, les auteurs ont mené des analyses en sélectionnant les pesticides en fonction de leur capacité à inhiber l'aldéhyde déshydrogénase, car cette enzyme détoxifie le métabolite de la dopamine 3,4-dihydroxyphénylacétaldéhyde (DOPAL) et son inhibition pourrait être impliquée dans la perte des neurones dopaminergiques (Fitzmaurice et coll., 2014). Ils ont développé un test pour identifier les pesticides inhibant l'aldéhyde déshydrogénase et ont testé 26 pesticides qui reflètent l'étendue des structures chimiques des pesticides disponibles dans le registre de ventes de pesticides californien à une concentration de 10 µM. L'activité de l'aldéhyde déshydrogénase a été étudiée dans des suspensions de neurones de la *substantia nigra* de rats nouveau-nés, en présence et en absence des pesticides. Parmi les 26 pesticides testés, 11 pesticides, appartenant aux classes chimiques suivantes, inhibaient l'aldéhyde déshydrogénase : ferbame, mancozèbe, manèbe, thirame, zinèbe, zirame (dithiocarbamates), bénomyl, triflumizole (imidazoles), captane, folpel (dicarboximide), dieldrine (organochlorés) ; les autres n'avaient pas d'effet : métam-sodium (dithiocarbamate), thiophanate-méthyl (imidazole), vinclozoline (dicarboximide), endosulfan (organochloré), aldicarbe, méthomyl (carbamates), chlorpyrifos, diméthoate, méthidathion, parathion, phorate (organophosphorés), atrazine, cyanazine (triazines), paraquat (bipyridiles), propargite. Parmi ces 11 pesticides, suffisamment de sujets étaient exposés à leur domicile ou lieu de travail pour 8 d'entre eux : bénomyl, captane, dieldrine, mancozèbe, manèbe, triflumizole, zinèbe, zirame. Dans les analyses suivantes, le groupe de référence était constitué des personnes qui n'étaient exposées à aucun des 11 pesticides et les analyses étaient ajustées sur l'âge, le sexe, le tabagisme et l'origine ethnique. Il existait une élévation du risque de maladie de Parkinson pour les participants exposés à ces pesticides à la fois à leur domicile et sur leur lieu de travail, qui était significative pour 4 d'entre eux (dieldrine, mancozèbe, manèbe, zirame). Les *odds ratios* étaient généralement plus faibles pour l'exposition au domicile ou sur le lieu de travail seule ; il existait néanmoins une association pour le bénomyl

sur le lieu de travail, la dieldrine au domicile et sur le lieu de travail, le mancozèbe, manèbe et zirame sur le lieu de travail. Des analyses multi-ajustées prenant en compte plusieurs pesticides n'ont pas été conduites et il est donc difficile de conclure quant à leur rôle individuel. Les auteurs, compte tenu de la corrélation entre ces pesticides, ont défini des indicateurs d'exposition à plusieurs d'entre eux et l'association la plus forte correspondait à l'exposition à au moins 3 pesticides à la fois au domicile et sur le lieu de travail (OR = 3,54, IC 95 % [1,51-8,30]). Les auteurs ont ensuite examiné le rôle modificateur du gène mitochondrial *ALDH2* et ont montré que l'association avec les pesticides inhibiteurs de l'aldéhyde déshydrogénase était limitée aux porteurs d'un haplotype particulier dont la fonctionnalité n'est pas connue.

Quelques études, ayant employé d'autres méthodologies de mesure de l'exposition, ont été publiées dans différents pays permettant d'apporter des éléments d'information complémentaires.

En France, une étude écologique a été réalisée en combinant les données de l'Assurance maladie, permettant d'estimer l'incidence cantonale de la maladie de Parkinson grâce à l'algorithme décrit plus haut (Moisan et coll., 2011), et les données du recensement agricole de 1988, permettant de caractériser le type d'agriculture des cantons (Kab et coll., 2017a). Elle repose sur 69 010 cas incidents de maladie de Parkinson en France métropolitaine (2010-2012) ; parmi l'ensemble des cas, 53 745 étaient âgés de plus de 50 ans et affiliés au régime général de l'Assurance maladie. L'incidence de la maladie de Parkinson augmentait progressivement avec la proportion de la surface des cantons allouée à l'agriculture. Après correction pour les tests multiples, ajustement sur l'âge, le sexe, la densité de neurologues, un indice de défavorisation et la prévalence du tabagisme, et en tenant compte de 18 types d'activités agricoles (13 cultures, 5 élevages), l'association la plus forte a été observée pour les cantons avec les proportions de terres agricoles dédiées à la viticulture les plus élevées, où l'incidence de la maladie était supérieure de 10 % à celle des cantons sans viticulture (RR = 1,10 ; IC 95 % [1,05-1,16]). Des résultats similaires étaient observés parmi les affiliés du régime général (c'est-à-dire dans des analyses n'incluant pas les affiliés à la MSA), notamment pour la viticulture (RR = 1,13 ; IC 95 % [1,07-1,19]). Une autre approche a consisté à définir des clusters de cantons ayant des caractéristiques agricoles similaires ; 6 clusters ont été identifiés. L'incidence de la maladie de Parkinson était significativement plus élevée dans le cluster caractérisé par une forte densité de viticulture, le seul dont le taux standardisé d'incidence était au-dessus de la moyenne nationale. La principale limite de cette étude est l'approche écologique. Toutefois, les cantons représentent

une unité géographique de relativement petite taille avec un nombre de cas suffisant et les analyses étaient ajustées sur un certain nombre de facteurs de confusion. Une autre limite est l'estimation de l'incidence en fonction des cantons de résidence au moment du diagnostic. Pour que la migration explique ces résultats, il faudrait que les cas de maladie de Parkinson aient plus souvent déménagé dans des régions rurales ou viticoles que des personnes non malades et cela avant le début de la maladie puisque les analyses reposent sur l'incidence. S'il n'existait pas de différence de migration entre les patients et les sujets indemnes, la migration induirait un biais de classement non différentiel et conduirait théoriquement à sous-estimer les associations. Enfin, dans des analyses de sensibilité, les cas incidents ayant déménagé dans les cinq ans précédant le diagnostic étaient exclus, avec des résultats similaires.

Afin d'évaluer l'association entre l'exposition environnementale aux pesticides et la maladie de Parkinson, les auteurs de l'étude cas-témoins hospitalière menée aux Pays-Bas décrite plus haut (van der Mark et coll., 2014) ont utilisé un modèle spatio-temporel construit en combinant des données d'occupation du sol (1961-2010 ; grille de 25 x 25 mètres) et des probabilités d'exposition aux pesticides pour chaque culture estimées par des experts (Brouwer et coll., 2017) ; les données d'occupation du sol étaient plus complètes à partir de 1990. La surface potentiellement traitée par pesticides dans un cercle de 100 mètres de rayon ayant pour centre le domicile des participants a permis d'estimer l'exposition environnementale, en lien avec la proximité résidentielle aux zones d'épandage agricole, à 157 pesticides utilisés aux Pays-Bas depuis 1961. Les indicateurs d'exposition générés (oui/non, exposition cumulée exprimée en hectares-années) tenaient compte des déménagements. Les analyses reposent sur des indicateurs calculés pour les cas jusqu'à la date de diagnostic et pour les témoins jusqu'à la date de diagnostic du cas apparié ; un délai de latence de 5, 10 ou 15 ans a été pris en compte dans des analyses de sensibilité. Les participants exposés aux pesticides dans le cadre de leur profession étaient exclus et les analyses reposaient sur 352 cas et 607 témoins. Après ajustement sur des facteurs de confusion, il n'existait pas d'association entre l'exposition environnementale aux 4 pesticides sélectionnés a priori compte tenu des résultats d'études précédentes (paraquat, manèbe, lindane, bénomyl). Après prise en compte d'un délai de latence de 10 ou 15 ans, l'association devenait significative pour le tercile supérieur d'exposition au paraquat (OR = 1,53 ; IC 95 % [1,00-2,33] et OR = 1,60 ; IC 95 % [1,05-2,44], respectivement) ; les auteurs précisent néanmoins qu'il existe une forte corrélation entre l'utilisation de paraquat et de manèbe, et que l'exposition au paraquat pourrait en fait refléter une exposition combinée aux deux produits. Dans des analyses limitées aux

données d'exposition générées après 1990, il existait une association pour l'exposition au lindane avec une relation dose-effet positive (OR = 1,95 ; IC 95 % [1,07-3,56]). Parmi les 153 pesticides restants (sans correction pour des tests multiples), les auteurs ont identifié une augmentation du risque de maladie de Parkinson pour 21 d'entre eux : 7 fongicides (anilazine, carbendazime, cymoxanil, fenpropimorphe, pencycuron, prochloraz et triadiménol), 10 herbicides (chlorotoluron, dinoterbe, fluazifop, fluroxypyr, isoproturon, MCPA, mécoprop, métobromuron, métribuzine et monolinuron), 3 insecticides (1,3-dichloropropène, metam-sodium et oxamyl), 1 régulateur de croissance (chlorméquat). Il s'agissait principalement de pesticides utilisés pour les céréales et les pommes de terre. Les associations étaient généralement plus fortes pour des expositions entre 0 et 50 mètres du domicile que pour celles entre 50 et 100 mètres. Les indicateurs d'exposition à ces 21 pesticides étaient fortement corrélés, ce qui n'a pas permis de distinguer leur effet individuel. Lorsque l'exposition aux types de cultures plutôt qu'aux pesticides était considérée, il existait une association pour la culture de bulbes à une distance de 100 à 500 mètres du domicile uniquement. Même si le modèle permettant d'évaluer l'exposition environnementale aux pesticides que les auteurs ont utilisé a des avantages, notamment le fait de ne pas reposer sur la déclaration des participants mais sur leur historique résidentiel, les expositions ont uniquement été définies au domicile des participants et pas à leur lieu de travail, ce qui pourrait conduire à des erreurs de classement non différentielles. Il conduit à des indicateurs d'exposition fortement corrélés, qui ne permettent pas d'étudier le rôle des pesticides individuellement mais les auteurs soulignent que l'analyse des 153 pesticides non sélectionnés a priori est génératrice d'hypothèses. Enfin, il s'agit d'une étude cas-témoins hospitalière et pas en population générale avec un taux d'acceptation relativement faible.

Dans l'État du Colorado aux États-Unis, les données de Medicare de 2007 ont été utilisées pour identifier 4 207 cas de maladie de Parkinson parmi 332 971 bénéficiaires âgés de plus de 65 ans et estimer les taux de prévalence au niveau du code ZIP (James et Hall, 2015). Les concentrations de pesticides dans les eaux souterraines au lieu de résidence ont été estimées grâce à un modèle spatial à partir de dosages de pesticides (atrazine, simazine, alachlore, métolachlore) dans 286 prélèvements d'eau réalisés entre 2000 et 2007. Après ajustement sur l'âge, le sexe et l'origine ethnique, la prévalence de la maladie de Parkinson augmentait de 3 % (OR = 1,03 ; IC 95 % [1,02-1,04]) pour une augmentation de 10 µg/l de pesticides dans les eaux souterraines. Cette étude montre donc une relation entre l'importance de la contamination des eaux souterraines par les pesticides et la prévalence de la maladie de Parkinson, mais ne permet pas de suggérer un rôle

causal des pesticides mesurés compte tenu de l'estimation de l'exposition. En effet, seuls quatre pesticides traceurs ont été mesurés et des facteurs de confusion comme le tabagisme n'ont pas été pris en compte. De plus, l'identification des cas de maladie de Parkinson dans des bases médico-administratives avec un algorithme très simple dont la validité n'est pas connue expose à un risque d'erreur de classement sur le diagnostic ; la prévalence qu'ils retrouvent est d'ailleurs plus faible qu'attendue aux États-Unis et des algorithmes plus précis ont été publiés récemment pour l'identification des cas de maladie de Parkinson dans les données Medicare (Ton et coll., 2014 ; Searles Nielsen et coll., 2017). De plus, s'agissant de cas prévalents de maladie de Parkinson, un biais de survie et la migration pourraient influencer les résultats ; les auteurs précisent néanmoins que les personnes de la tranche d'âge étudiée et vivant en zone rurale ont peu migré sur cette période dans le Colorado. Enfin, les concentrations des pesticides ont été estimées entre 2000 et 2007, soit après le début de la maladie pour de nombreux cas ; les auteurs précisent qu'elles ont eu tendance à diminuer par rapport à des périodes plus anciennes.

Dans l'État de Washington, également aux États-Unis, une étude a estimé la relation entre l'exposition aux pesticides au domicile et la mortalité prématurée par la maladie de Parkinson (définie comme survenant avant 75 ans) entre 2011 et 2015. Les auteurs ont combiné des données géospatiales d'utilisation des sols et des données d'application de pesticides obtenues par enquête auprès d'agriculteurs (2011-2015) pour définir une matrice culture-exposition (Caballero et coll., 2018). Les personnes habitant au moment du décès à moins de 1 000 mètres d'un terrain traité par pesticides étaient considérées exposées. Les auteurs ont sélectionné 4 pesticides : glyphosate, diazinon, atrazine, paraquat. Les analyses ont été ajustées sur le sexe, l'origine ethnique, le statut marital et le niveau d'éducation. Les expositions des décès précoces ($\leq$ 74 ans, n = 659) ont été comparées à celles des décès tardifs ($\geq$ 75 ans, n = 3 932). Aucune association significative n'a été mise en évidence entre l'exposition aux pesticides (tous types confondus) et la mortalité prématurée par maladie de Parkinson (OR = 1,19 ; IC 95 % [0,98-1,44]). L'association était significative pour l'exposition résidentielle au glyphosate (RR = 1,33 ; IC 95 % [1,06-1,67]) mais pas pour l'atrazine (OR = 1,21 ; IC 95 % [0,84-1,74]), le diazinon (OR = 1,07 ; IC 95 % [0,85-1,34]) ou le paraquat (OR = 1,22 ; IC 95 % [0,99-1,51]) ; des modèles multivariés tenant compte de l'exposition à plusieurs pesticides n'ont pas été réalisés. Comme cela est mentionné plus haut, la principale limite de cette étude est le recours aux certificats de décès pour identifier les cas de maladie de Parkinson, car on sait que le diagnostic de maladie de Parkinson est indiqué sur les certificats de décès pour environ 50 % des patients parkinsoniens qui décèdent (Paulson et Gill, 1995 ; Goldacre et coll., 2010 ; Benito-León et coll., 2014).

De plus, la comparaison des taux de décès par âge nécessiterait de prendre en compte des facteurs de confusion dont la fréquence a considérablement changé au cours du temps, comme le tabagisme ou l'activité physique. Enfin, seuls 4 pesticides ont été sélectionnés sans que le choix des auteurs ne soit explicité. Il n'est pas possible de conclure quant au rôle spécifique de l'un des pesticides évalués puisqu'il pourrait agir comme marqueur d'une exposition à d'autres produits.

Dans l'État américain du Nebraska, un registre sur la maladie de Parkinson existe et a permis d'identifier 6 557 cas incidents entre 1997 et 2008 et de réaliser une analyse écologique (Wan et Lin, 2016). L'occupation du sol de 19 cultures agricoles a été déterminée à partir d'images satellites (2005) et les 5 majoritaires dans cet État ont été retenues. L'utilisation de pesticides pour chaque culture a été déterminée à partir de plusieurs types de sources, incluant des données publiques (*US Geological Survey, National Center for Food and Agricultural Policy*) et des enquêtes auprès d'agriculteurs. Vingt pesticides (15 herbicides, 5 insecticides dont 2 carbamates et 3 organophosphorés), pour lesquels les données étaient considérées suffisamment complètes par les auteurs, ont été retenus pour les analyses. Un système d'information géographique a été utilisé pour ensuite déterminer la distribution spatiale de l'exposition à ces pesticides. Après ajustement sur l'âge, l'incidence de la maladie de Parkinson dans les comtés de l'État n'était pas associée à l'exposition aux pesticides. Toutefois, après exclusion du groupe de référence des comtés qui présentaient l'incidence la plus élevée de maladie de Parkinson et étaient caractérisés par une faible exposition aux pesticides, l'incidence était plus élevée dans les comtés fortement exposés à l'atrazine, bromoxynil, alachlore, métribuzine et glyphosate. Dans un modèle multi-ajusté qui prenait en compte les cinq produits et la densité des cultures, seul l'alachlore était significatif. L'analyse écologique au niveau des comtés, qui sont des unités géographiques de relativement grande taille, et l'absence d'ajustement sur des facteurs de confusion autre que l'âge, sont des limites de cette étude. Les relations mises en évidence n'apparaissaient qu'après exclusion a posteriori des comtés qui présentaient l'incidence la plus élevée et qui d'après les auteurs sont des comtés caractérisés par une forte présence d'élevage mais pas d'autres cultures. Toutefois, l'incidence élevée dans ces comtés demeure inexpliquée.

Dans une étude écologique israélienne dans la région de Néguev (139 localités), les cas de maladie de Parkinson affiliés à un régime d'assurance maladie (*Clalit Health Services*) qui couvre environ 70 % des habitants ont été identifiés entre 2000 et 2012 (Yitshak Sade et coll., 2015). Les caractéristiques des affiliés à ce régime d'assurance maladie sont similaires à celles des affiliés à trois autres régimes couvrant les 30 % restants de la population, à

l'exception de leur âge plus élevé. Les cas ont été identifiés à l'aide d'un algorithme reposant sur les achats de médicaments antiparkinsoniens qui a été validé par rapport à un examen clinique (Chillag-Talmor et coll., 2011). L'occupation du sol a été déterminée à partir de statistiques de l'État d'Israël (terres agricoles, terres désertes, habitat, zones industrielles). Les taux d'incidence et de prévalence de maladie de Parkinson, ajustés sur l'âge ($\leq$ 65 ans, > 65 ans) et le pourcentage d'hommes, ont été calculés pour 4 types de localités. Les taux standardisés d'incidence étaient plus élevés en médiane dans les localités définies comme « juives rurales » par rapport aux localités « juives urbaines », « bédouines temporaires » ou « bédouines permanentes » et les analyses ont été limitées à ces localités par la suite. Les taux standardisés d'incidence étaient plus élevés dans les localités « juives rurales » à proximité de terres agricoles. La nature écologique de l'analyse et l'absence de prise en compte de facteurs de confusion, de même que l'ajustement peu précis sur l'âge en deux classes, représentent des limites de l'étude. De plus, les auteurs ne disposaient pas d'un historique résidentiel et n'ont pas pu prendre en compte d'éventuels déménagements.

Honolulu-Asia aging study (Hawaii, États-Unis)

Un paragraphe indépendant est consacré à l'étude de cohorte *Honolulu-Asia aging study* car il s'agit d'un contexte spécifique, avec une exposition importante à un produit, l'heptachlore, utilisé pour les cultures d'ananas à Hawaii. De plus, c'est l'une des premières à avoir identifié des cas incidents de maladie de Parkinson et à avoir mis en évidence l'importance des signes pré-moteurs (Ross et coll., 2012).

Il s'agit d'une étude de cohorte ayant recruté, en 1965, 8 006 hommes d'origine japonaise âgés entre 45 et 68 ans, vivant sur l'île de Oahu, Hawaii, et chez qui le diagnostic de maladie de Parkinson au cours du suivi a été validé par examen neurologique. Dans des analyses antérieures au sein de cette cohorte, les auteurs avaient montré que le risque de maladie de Parkinson était augmenté chez les hommes ayant travaillé dans une plantation (canne-à-sucre, ananas), avec une relation dose-effet pour la durée ; il existait une élévation du risque, mais non significative, pour l'exposition aux pesticides (professionnelle ou domestique) auto-rapportée (Petrovitch et coll., 2002). Comme dans d'autres études de cohorte sur la maladie de Parkinson (Jiang et coll., 2014), il existe dans cette étude une association positive entre la consommation de lait, indépendante de l'apport en calcium, et l'incidence de la maladie (Park et coll., 2005). L'une des explications possibles pourrait être la contamination du lait par des substances neurotoxiques. En étudiant les cerveaux de 449 hommes décédés entre 1992 et 2004, ces auteurs ont mis

en évidence une relation inverse entre la consommation de lait journalière (> à 450 ml/j) entre 1965 et 1968 et la densité des neurones dans la *substantia nigra*, uniquement chez les non-fumeurs, y compris après exclusion des patients parkinsoniens ; il n'existait pas d'association chez les fumeurs (Abbott et coll., 2016). De plus, il existait une corrélation positive entre la consommation de lait et la présence de résidus d'heptachlore, un insecticide organochloré. Après la Seconde Guerre mondiale et jusqu'à son interdiction en 1988, l'heptachlore a été utilisé à Hawaii en grande quantité pour la culture des ananas. Un épisode de contamination du lait distribué sur l'île par un de ses métabolites, l'heptachlore époxyde, a été rapporté en 1982 ; il avait été attribué à l'inclusion de feuilles d'ananas traitées par heptachlore dans l'alimentation des vaches. De plus, le sol volcanique de Hawaii est poreux et faciliterait la contamination par les pesticides des eaux souterraines. Ces auteurs ont ensuite étudié la relation entre la détection de 15 insecticides organochlorés dans le lobe occipital du cerveau des participants décédés (mesures effectuées par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse sur 705 cerveaux) et la présence de corps de Lewy dans plusieurs régions du cerveau (Ross et coll., 2019). Environ un quart des cerveaux présentaient des corps de Lewy, et leur prévalence était près de deux fois plus importante pour les échantillons avec des niveaux détectables d'heptachlore époxyde, d'hexachlorobenzène et de α-chlordane. Cette association demeurait significative uniquement pour l'heptachlore époxyde dans un modèle multivarié et après exclusion des cas de maladie de Parkinson ou de démence à corps de Lewy. L'heptachlore était détecté dans 57 % des cerveaux. Il fait partie de la même famille que la dieldrine (cyclodiènes) qui a souvent été prise comme modèle pour les études toxicologiques dans la maladie de Parkinson (Kitazawa et coll., 2001 ; Kitazawa et coll., 2003 ; Kanthasamy et coll., 2005 ; Sun et coll., 2005 ; Hatcher et coll., 2008). Bien que seul l'heptachlore demeure significatif dans l'analyse multi-ajustée, les auteurs n'éliminent pas qu'il puisse exister une association également pour d'autres organochlorés, notamment l'hexachlorobenzène ou le α-chlordane car très peu de sujets étaient uniquement exposés à seulement l'un d'entre eux en raison des expositions corrélées.

Conclusion

Les études publiées depuis la précédente expertise collective Inserm de 2013 confirment l'existence d'une association entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la maladie de Parkinson. Quelques études ont mis en évidence des relations dose-effet, notamment en fonction de la durée d'évolution, mais

au moins une étude a montré l'importance de prendre en compte l'intensité de l'exposition. Il reste difficile de mettre en évidence le rôle de produits ou de familles de produits spécifiques. Plusieurs études ont néanmoins identifié avec des approches différentes les insecticides organochlorés comme étant associés à la maladie de Parkinson et les résultats des travaux réalisés à Hawaii sont en faveur du rôle de l'exposition aux insecticides organochlorés dans les mécanismes qui conduisent à la maladie de Parkinson. Les autres études dont on dispose se sont intéressées souvent à des matières actives différentes, et donc ne se recoupent que partiellement, et les analyses statistiques ne prennent pas toujours bien en compte la question des expositions corrélées à plusieurs produits. Néanmoins, hormis les autres substances déjà identifiées en 2013 (paraquat, roténone, dieldrine), deux nouvelles méta-analyses récentes confirment le lien avec le paraquat et les nouvelles études évoquent des associations avec les familles ou matières actives suivantes : insecticides organophosphorés, fongicides dithiocarbamates (mancozèbe, manèbe, zinèbe, zirame, mancopper) et carbamates (bénomyl). Ces associations avec des substances actives méritent d'être confirmées par des études complémentaires notamment pour mieux prendre en compte la question des corrélations entre produits.

Même si l'exposition environnementale aux pesticides est vraisemblablement plus faible que l'exposition professionnelle, le nombre de personnes concernées est plus important. Par rapport à la précédente expertise collective, le nombre d'études sur le rôle de l'exposition environnementale a augmenté. Plusieurs études, réalisées dans des pays différents, tendent à retrouver des arguments en faveur d'une augmentation du risque de maladie de Parkinson en relation avec l'exposition environnementale aux pesticides (résidence dans des régions agricoles ou à forte densité d'un type de culture) ou l'habitat ou lieu de travail à proximité de terrains agricoles traités. Toutefois, il s'agit souvent d'études écologiques avec des indicateurs d'exposition peu précis et des études complémentaires, idéalement à partir de données individuelles, sont encore nécessaires.

Enfin, on remarque qu'aucune étude épidémiologique n'a abordé le rôle des expositions précoces aux pesticides, que cela soit pendant la grossesse ou dans l'enfance, en raison de difficultés méthodologiques liées à l'âge tardif de la survenue de la maladie.

Tableau 7.I : Résultats des principales méta-analyses publiées depuis la précédente expertise collective de 2013

Référence	Nombre total d'études et type d'études	Exposition aux pesticides ou population exposée	Nombre d'études	Effet Taille d'effet, RR ou OR [IC 95 %]	Hétérogénéité I^2
Allen et Levy, 2013	1 cohorte, 28 cas-témoins	Population totale Population professionnelle Population résidentielle (domicile)	29 20 6	1,42 [1,32-1,52] 1,49 [1,34, 1,66] 1,34 [1,09, 1,65]	74,0 % p = 0,001 40,0 % p = 0,02 27,0 % p = 0,85
Pezzoli et Cereda, 2013	6 études prospectives et 83 cas-témoins	Pesticides Herbicides Insecticides Fongicides Organochlorés Organophosphorés Paraquat Manèbe/mancozèbe DDT	51 19 18 12 5 7 7 4 5	1,76 [1,56-2,04] 1,33 [1,08-1,65] 1,53 [1,12-2,08] 0,97 [0,69-1,38 1,39 [0,77-2,50] 1,27 [0,82-1,98] 2,19 [1,48-3,26] 1,49 [0,85-2,63] 1,03 [0,80-1,34]	67,3 % 55,0 % p = 0,805 78,8 % p = 0,245 35,4 % p = 0,597 60,6 % 68,9 % 51,1 % p = 0,003 13,8 % 0,0 %
Breckenridge et coll., 2016	105 études dont la majorité sont des études cas-témoins	Utilisation *versus* non-utilisation Pesticides Herbicides Fongicides Insecticide Paraquat	 49 18 10 17 13	 1,56 [1,37-1,77] 1,20 [1,00-1,43] 0,96 [0,74-1,25] 1,46 [1,01-2,11] 1,69 [1,44-1,98]	 77,4 % p < 0,0001 41,2 % p = 0,0352 12,8 % p = 0,3256 81,0 % p < 0,0001 69,9 % p = 0,0001
Ahmed et coll., 2017	64 études cas-témoins	Pesticides		1,46 [1,21-1,77]]	74 % p<0,01
Gunnarsson et Bodin, 2017	23 études (15 cas-témoins et 8 registres/cohorte avec haut standard de qualité)	Exposition professionnelle	23	1,67 [1,42-1,97]	75,0 %, p<0,001
Yan et coll., 2018	2 études de cohortes et 8 cas-témoins	Pesticides : 1 année d'exposition 5 années d'exposition 10 années d'exposition	 10 10 10	 1,01 [1,00-1,02] 1,05 [1,02-1,09] 1,11 [1,05-1,18]	 53,8 % p = 0,022 50,5 % p = 0,033 50,9 % p = 0,032
Gunnarsson et Bodin, 2019	66 études	Exposition professionnelle	24	1,66 [1,42-1,94]	74,2 %, p = 0,000
Vaccari et coll., 2019	10 études cas-témoins et 1 cohorte	Paraquat Exposition professionnelle et environnementale Exposition longue (>20 ans) Exposition paraquat et autres dithiocarbamates	10 9 (GRADE) 9 (GRADE) 2	1,43 [1,06-1,91] 1,25 [1,01-1,55] 1,75 [1,28-2,39] 1,64 [1,15-2,35]	56 % p = 0,02 23 % p = 0,04 3 % p = 0,0004 24 % p = 0,006
Tangamornsuksan et coll., 2019	13 études cas-témoins et 1 cohorte	Paraquat Exposition professionnelle et environnementale	14	1,64 [1,27-2,13]	24,8 %

Références

• Étude financée par un industriel des phytosanitaires

Abbott RD, Ross GW, Petrovitch H, *et al*. Midlife milk consumption and substantia nigra neuron density at death. *Neurology* 2016 ; 86 : 512-9.

Ahmed H, Abushouk AI, Gabr M, *et al*. Parkinson's disease and pesticides: A meta-analysis of disease connection and genetic alterations. *Biomed Pharmacother* 2017 ; 90 : 638-49.

Allen MT, Levy LS. Parkinson's disease and pesticide exposure – a new assessment. *Crit Rev Toxicol* 2013 ; 43 : 515-34.

Anses. *Exposition des travailleurs agricoles aux pesticides - Volume 2 : Analyse de la littérature pour les situations françaises*. Anses. Maisons-Alfort, 2016 : 180 p.

Baldi I, Carles C, Blanc-Lapierre A, *et al*. A French crop-exposure matrix for use in epidemiological studies on pesticides: PESTIMAT. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2017 ; 27 : 56-63.

Baldi I, Lebailly P, Rondeau V, *et al*. Levels and determinants of pesticide exposure in operators involved in treatment of vineyards: results of the PESTEXPO Study. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2012 ; 22 : 593-600.

Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, *et al*. Environmental risk factors and Parkinson's disease: An umbrella review of meta-analyses. *Parkinsonism & Related Disorders* 2016 ; 23 : 1-9.

Benito-León J, Louis ED, Villarejo-Galende A, *et al*. Under-reporting of Parkinson's disease on death certificates: a population-based study (NEDICES). *J Neurol Sci* 2014 ; 347 : 188-92.

Borghammer P. How does parkinson's disease begin? Perspectives on neuroanatomical pathways, prions, and histology. *Mov Disord* 2018 ; 33 : 48-57.

Breckenridge CB, Berry C, Chang ET, *et al*. Association between Parkinson's disease and cigarette smoking, rural living, well-water consumption, farming and pesticide use: systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2016 ; 11 : e0151841. •

Brouwer M, Kromhout H, Vermeulen R, *et al*. Assessment of residential environmental exposure to pesticides from agricultural fields in the Netherlands. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2018 ; 28 : 173-81.

Brouwer M, Huss A, van der Mark M, *et al*. Environmental exposure to pesticides and the risk of Parkinson's disease in the Netherlands. *Environ Int* 2017 ; 107 : 100-10.

Brouwer M, Koeman T, van den Brandt PA, *et al*. Occupational exposures and Parkinson's disease mortality in a prospective Dutch cohort. *Occup Environ Med* 2015 ; 72 : 448-55.

Caballero M, Amiri S, Denney JT, *et al*. Estimated residential exposure to agricultural chemicals and premature mortality by Parkinson's disease in Washington State. *Int J Environ Res Public Health* 2018 ; 15 : 2885.

Cao F, Souders Ii CL, Perez-Rodriguez V, *et al*. Elucidating conserved transcriptional networks underlying pesticide exposure and Parkinson's disease: a focus on chemicals of epidemiological relevance. *Front Genet* 2018 ; 9 : 701.

Chang D, Nalls MA, Hallgrímsdóttir IB, *et al*. A meta-analysis of genome-wide association studies identifies 17 new Parkinson's disease risk loci. *Nat Genet* 2017 ; 49 : 1511-6.

Chaudhuri KR, Healy DG, Schapira AHV. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol* 2006 ; 5 : 235-45.

Chillag-Talmor O, Giladi N, Linn S, *et al*. Use of a refined drug tracer algorithm to estimate prevalence and incidence of Parkinson's disease in a large israeli population. *J Parkinsons Dis* 2011 ; 1 : 35-47.

Choi J, Polcher A, Joas A. Systematic literature review on Parkinson's disease and Childhood Leukaemia and mode of actions for pesticides. *Efsa Supporting Publications* 2016 ; EN-955 : 1-256.

Costello S, Cockburn M, Bronstein J, *et al*. Parkinson's disease and residential exposure to maneb and paraquat from agricultural applications in the central valley of California. *Am J Epidemiol* 2009 ; 169 : 919-26.

Elbaz A. Prodromal symptoms of Parkinson's disease: Implications for epidemiological studies of disease etiology. *Rev Neurol (Paris)* 2016 ; 172 : 503-11.

Fitzmaurice AG, Rhodes SL, Cockburn M, *et al*. Aldehyde dehydrogenase variation enhances effect of pesticides associated with Parkinson disease. *Neurology* 2014 ; 82 : 419-26.

Fitzmaurice AG, Rhodes SL, Lulla A, *et al*. Aldehyde dehydrogenase inhibition as a pathogenic mechanism in Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013 ; 110 : 636-41.

Freire C, Koifman S. Pesticide exposure and Parkinson's disease: epidemiological evidence of association. *Neurotoxicology* 2012 ; 33 : 947-71.

Furlong M, Tanner CM, Goldman SM, *et al*. Protective glove use and hygiene habits modify the associations of specific pesticides with Parkinson's disease. *Environ Int* 2015 ; 75 : 144-50.

Goldacre MJ, Duncan M, Griffith M, *et al*. Trends in death certification for multiple sclerosis, motor neuron disease, Parkinson's disease and epilepsy in English populations 1979-2006. *J Neurol* 2010 ; 257 : 706-15.

Gunnarsson L-G, Bodin L. Occupational exposures and neurodegenerative diseases-A systematic literature review and meta-analyses. *Int J Environ Res Public Health* 2019 ; 16 : E337.

Gunnarsson L-G, Bodin L. Parkinson's disease and occupational exposures: a systematic literature review and meta-analyses. *Scand J Work Environ Health* 2017 ; 43 : 197-209.

Hancock DB, Martin ER, Mayhew GM, *et al*. Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: a family-based case-control study. *BMC Neurol* 2008 ; 8 : 6.

Hatcher JM, Pennell KD, Miller GW. Parkinson's disease and pesticides: a toxicological perspective. *Trends Pharmacol Sci* 2008 ; 29 : 322-9.

Hernandez AF, Gonzalez-Alzaga B, Lopez-Flores I, *et al*. Systematic reviews on neurodevelopmental and neurodegenerative disorders linked to pesticide exposure: Methodological features and impact on risk assessment. *Environ Int* 2016 ; 92-93 : 657-79.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1001 p.

James KA, Hall DA. Groundwater pesticide levels and the association with Parkinson disease. *Int J Toxicol* 2015 ; 34 : 266-73.

Jiang W, Ju C, Jiang H, *et al*. Dairy foods intake and risk of Parkinson's disease: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Epidemiol* 2014 ; 29 : 613-9.

Kab S, Spinosi J, Chaperon L, *et al*. Agricultural activities and the incidence of Parkinson's disease in the general French population. *Eur J Epidemiol* 2017a ; 32 : 203-16.

Kab S, Moisan F, Elbaz A. Farming and incidence of motor neuron disease: French nationwide study. *Eur J Neurol* 2017b ; 24 : 1191-5.

Kanthasamy A, Jin H, Charli A, *et al*. Environmental neurotoxicant-induced dopaminergic neurodegeneration: a potential link to impaired neuroinflammatory mechanisms. *Pharmacol Ther* 2019 ; 197 : 61-82.

Kanthasamy AG, Kitazawa M, Kanthasamy A, *et al*. Dieldrin-induced neurotoxicity: relevance to Parkinson's disease pathogenesis. *Neurotoxicology* 2005 ; 26 : 701-19.

Kitazawa M, Anantharam V, Kanthasamy AG. Dieldrin induces apoptosis by promoting caspase-3-dependent proteolytic cleavage of protein kinase Cdelta in dopaminergic cells: relevance to oxidative stress and dopaminergic degeneration. *Neuroscience* 2003 ; 119 : 945-64.

Kitazawa M, Anantharam V, Kanthasamy AG. Dieldrin-induced oxidative stress and neurochemical changes contribute to apoptopic cell death in dopaminergic cells. *Free Radic Biol Med* 2001 ; 31 : 1473-85.

Mandel JS, Adami H-O, Cole P. Paraquat and Parkinson's disease: an overview of the epidemiology and a review of two recent studies. *Regul Toxicol Pharmacol* 2012 ; 62 : 385-92. •

Moisan F, Wanneveich M, Kab S, *et al*. Fréquence de la maladie de Parkinson en France en 2015 et évolution jusqu'en 2030. *Bull Epidemiol Hebd* 2018 ; 8-9 : 128-40.

Moisan F, Kab S, Mohamed F, *et al*. Parkinson disease male-to-female ratios increase with age: French nationwide study and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016 ; 87 : 952-7.

Moisan F, Spinosi J, Delabre L, *et al*. Association of Parkinson's disease and its subtypes with agricultural pesticide exposures in men: a case-control study in France. *Environ Health Perspect* 2015 ; 123 : 1123-9.

Moisan F, Gourlet V, Mazurie J-L, *et al.* Prediction model of Parkinson's disease based on antiparkinsonian drug claims. *Am J Epidemiol* 2011 ; 174 : 354-63.

Moretto A, Colosio C. The role of pesticide exposure in the genesis of Parkinson's disease: epidemiological studies and experimental data. *Toxicology* 2013 ; 307 : 24-34.

Nandipati S, Litvan I. Environmental exposures and Parkinson's disease. *Int J Environ Res Public Health* 2016 ; 13.

Narayan S, Liew Z, Bronstein JM, *et al.* Occupational pesticide use and Parkinson's disease in the Parkinson Environment Gene (PEG) study. *Environ Int* 2017 ; 107 : 266-73.

Narayan S, Liew Z, Paul K, *et al.* Household organophosphorus pesticide use and Parkinson's disease. *Int J Epidemiol* 2013 ; 42 : 1476-85.

Ntzani EE, Chondrogiorgi M, Ntritsos G, *et al.* Literature review on epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects. *Efsa Supporting Publications* 2013 ; EN-497 : 1-159.

Park M, Ross GW, Petrovitch H, *et al.* Consumption of milk and calcium in midlife and the future risk of Parkinson disease. *Neurology* 2005 ; 64 : 1047-51.

Paulson GW, Gill WM. Are death certificates reliable to estimate the incidence of Parkinson's disease ? *Mov Disord* 1995 ; 10 : 678.

Petrovitch H, Ross GW, Abbott RD, *et al.* Plantation work and risk of Parkinson disease in a population-based longitudinal study. *Arch Neurol* 2002 ; 59 : 1787-92.

Pezzoli G, Cereda E. Exposure to pesticides or solvents and risk of Parkinson disease. *Neurology* 2013 ; 80 : 2035-41.

Polito L, Greco A, Seripa D. Genetic profile, environmental exposure, and their interaction in Parkinson's disease. *Parkinsons Dis* 2016 ; 2016 : 6465793.

Pouchieu C, Piel C, Carles C, *et al.* Pesticide use in agriculture and Parkinson's disease in the AGRICAN cohort study. *Int J Epidemiol* 2018 ; 47 : 299-310.

Priyadarshi A, Khuder SA, Schaub EA, *et al.* A meta-analysis of Parkinson's disease and exposure to pesticides. *Neurotoxicology* 2000 ; 21 : 435-40.

Ross GW, Abbott RD, Petrovitch H, *et al.* Association of brain heptachlor epoxide and other organochlorine compounds with lewy pathology. *Mov Disord* 2019 ; 34 : 228-35.

Ross GW, Abbott RD, Petrovitch H, *et al.* Pre-motor features of Parkinson's disease: the Honolulu-Asia Aging Study experience. *Parkinsonism & Related Disorders* 2012 ; 18 Suppl 1 : S199-202.

Savica R, Bradley BF, Mielke MM. When do α-synucleinopathies start? An epidemiological timeline: a review. *JAMA Neurol* 2018 ; 75 : 503-9.

Scheperjans F, Derkinderen P, Borghammer P. The gut and Parkinson's disease: hype or hope? *J Parkinsons Dis* 2018 ; 8 : S31-S39.

Searles Nielsen S, Warden MN, Camacho-Soto A, *et al.* A predictive model to identify Parkinson disease from administrative claims data. *Neurology* 2017 ; 89 : 1448-56.

Sun F, Anantharam V, Latchoumycandane C, *et al.* Dieldrin induces ubiquitin-proteasome dysfunction in alpha-synuclein overexpressing dopaminergic neuronal cells and enhances susceptibility to apoptotic cell death. *J Pharmacol Exp Ther* 2005 ; 315 : 69-79.

Tangamornsuksan W, Lohitnavy O, Sruamsiri R, *et al.* Paraquat exposure and Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Arch Environ Occup Health* 2019 ; 74 : 225-38.

Tanner CM, Kamel F, Ross GW, *et al.* Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease. *Environ Health Perspect* 2011 ; 119 : 866-72.

Ton TGN, Biggs ML, Comer D, *et al.* Enhancing case ascertainment of Parkinson's disease using Medicare claims data in a population-based cohort: the Cardiovascular Health Study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2014 ; 23 : 119-27.

Vaccari C, El Dib R, Gomaa H, *et al.* Paraquat and Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2019 ; 22 : 172-202.

van der Mark M, Vermeulen R, Nijssen PCG, *et al.* Occupational exposure to pesticides and endotoxin and Parkinson disease in the Netherlands. *Occup Environ Med* 2014 ; 71 : 757-64.

van der Mark M, Brouwer M, Kromhout H, *et al.* Is pesticide use related to Parkinson disease ? Some clues to heterogeneity in study results. *Environ Health Perspect* 2012 ; 120 : 340-7.

Van Maele-Fabry G, Hoet P, Vilain F, *et al.* Occupational exposure to pesticides and Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Environ Int* 2012 ; 46 : 30-43.

Wang A, Cockburn M, Ly TT, *et al.* The association between ambient exposure to organophosphates and Parkinson's disease risk. *Occup Environ Med* 2014 ; 71 : 275-81.

Wang A, Costello S, Cockburn M, *et al.* Parkinson's disease risk from ambient exposure to pesticides. *Eur J Epidemiol* 2011 ; 26 : 547-55.

Wan N, Lin G. Parkinson's disease and pesticides exposure: new findings from a comprehensive study in Nebraska, USA. *J Rural Health* 2016 ; 32 : 303-13.

Wanneveich M, Moisan F, Jacqmin-Gadda H, *et al.* Projections of prevalence, lifetime risk, and life expectancy of Parkinson's disease (2010-2030) in France. *Mov Disord* 2018 ; 33 : 1449-55.

Yan D, Zhang Y, Liu L, *et al.* Pesticide exposure and risk of Parkinson's disease: Dose-response meta-analysis of observational studies. *Regul Toxicol Pharmacol* 2018 ; 96 : 57-63.

Yitshak Sade M, Zlotnik Y, Kloog I, *et al.* Parkinson's disease prevalence and proximity to agricultural cultivated fields. *Parkinsons Dis* 2015 ; 2015 : 576564.

8
Sclérose latérale amyotrophique

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est la plus fréquente des maladies du motoneurone. Il s'agit d'une affection neurodégénérative progressive responsable d'une faiblesse musculaire associée à une rigidité s'étendant progressivement et responsable du décès en raison de difficultés respiratoires et de troubles de la déglutition. Elle est secondaire à la dégénérescence des neurones moteurs de la moelle épinière (corne antérieure), du tronc cérébral et du cortex cérébral. La médiane de la durée d'évolution après les premiers symptômes est en moyenne de 30 mois et après le diagnostic de 19 mois (Logroscino et coll., 2008).

L'étiologie de la SLA n'est pas connue, mais plusieurs facteurs, génétiques et environnementaux, interviennent vraisemblablement dans la majorité des cas. Environ 5 à 10 % des patients ont des antécédents familiaux de SLA et les frères et enfants de patients atteints de SLA ont un risque de développer la maladie 10 fois plus élevé que des personnes de même âge et sexe non apparentées à des patients (Fang et coll., 2009b). Parmi les facteurs de risque environnementaux, le tabagisme serait associé à une augmentation du risque de SLA (Wang et coll., 2011 ; Armon, 2019) de même que l'exposition au plomb (Kamel et coll., 2005 ; Fang et coll., 2010). Le rôle de l'activité physique reste débattu (Pupillo et coll., 2014 ; Gallo et coll., 2016 ; Visser et coll., 2018), de même que le rôle des traumatismes, notamment crâniens (Pupillo et coll., 2012 ; Watanabe et Watanabe, 2017).

À partir des bases de données de l'Assurance maladie et d'un algorithme prenant en compte les remboursements de riluzole (seul traitement médicamenteux disponible et spécifique de cette pathologie), les hospitalisations et les demandes d'affection longue durée, on estime que près de 2 200 personnes ont développé une maladie du motoneurone chaque année en France entre 2012 et 2014 (incidence standardisée sur la population des États-Unis de 2010 = 2,72 pour 100 000 personnes-années) (Kab et coll., 2017b). Ce taux d'incidence est similaire à celui observé dans d'autres pays occidentaux (Marin et coll., 2017). L'incidence est environ 1,3 à 1,4 fois plus élevée chez les hommes que chez les femmes (Marin et coll., 2017 ; Ahmadzai et coll., 2018).

Plusieurs études suggèrent que la mortalité (Seljeseth et coll., 2000 ; Noonan et coll., 2005 ; Gordon et coll., 2011) et l'incidence (Murphy et coll., 2008 ; Fang et coll., 2009a) de la SLA ont augmenté dans les dernières décennies mais les raisons de cette évolution restent mal connues. D'après des modèles âge-période-cohorte développés en France à partir de données de mortalité entre 1968 et 2007 (Gordon et coll., 2011) et dans d'autres pays (Ajdacic-Gross et coll., 2012 ; Seals et coll., 2013 ; Nakken et coll., 2016), cette augmentation serait plus vraisemblablement compatible avec un effet cohorte de naissance qu'avec un effet période de décès ; ce résultat serait donc en faveur du rôle de facteurs de risque environnementaux.

Conclusions de l'expertise collective « Pesticides : Effets sur la santé » de l'Inserm en 2013

La précédente expertise collective (Inserm, 2013) avait identifié une dizaine d'études sur la relation entre la SLA et l'exposition professionnelle aux pesticides. Il s'agissait essentiellement d'études cas-témoins, mais trois études de cohorte étaient disponibles. L'une d'entre elles, de nature rétrospective et conduite parmi des travailleurs d'une usine produisant du 2,4-D, avait retrouvé une association significative à partir de trois cas de SLA (Burns et coll., 2001). Les deux autres études (Weisskopf et coll., 2009 ; Kamel et coll., 2012) n'avaient pas montré une association significative entre la SLA et l'exposition aux pesticides dans l'ensemble, mais retrouvaient néanmoins une élévation du risque, non significative, pour des expositions prolongées ou pour certains produits. Deux méta-analyses étaient en faveur d'une association (Kamel et coll., 2012 ; Malek et coll., 2012). Les études qu'elles avaient prises en compte étaient hétérogènes, notamment quant aux méthodes d'évaluation de l'exposition, et reposaient généralement sur une exposition autodéclarée par les participants ; l'exposition était validée par des hygiénistes industriels dans une seule étude (McGuire et coll., 1997). De plus, il était difficile d'évaluer l'existence d'un biais de publication compte tenu du petit nombre d'études disponibles.

L'expertise avait conclu au besoin d'études de grande taille et comportant une évaluation de l'exposition plus précise (type de produits, durée d'exposition) afin de mieux caractériser la relation entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la SLA.

Mise à jour des données

Revues et méta-analyses

Depuis la précédente expertise, une revue de la littérature (Mostafalou et Abdollahi, 2017) et deux méta-analyses (Kang et coll., 2014 ; Gunnarsson et Bodin, 2018) ont identifié les articles portant sur la relation entre l'exposition aux pesticides et la SLA.

Une méta-analyse publiée en 2014 (Kang et coll., 2014) montrait une association de la SLA avec le métier d'agriculteur (OR = 1,42 ; IC 95 % [1,17-1,73], 10 études, I^2 = 42,1 %) ainsi que l'exposition aux pesticides (OR = 1,44 ; IC 95 % [1,22-1,70], 15 études, I^2 = 41,2 %) ; l'association était plus faible et non significative pour l'habitat en milieu rural (OR = 1,25 ; IC 95 % [0,84-1,87], 5 études, I^2 = 59,7 %). Toutes les études avaient été publiées en 2012 ou avant et la plupart avaient déjà été prises en compte dans les méta-analyses précédentes avec des résultats similaires (Kamel et coll., 2012 ; Malek et coll., 2012). Il n'existait pas d'argument statistique pour un biais de publication, mais les auteurs notaient que le graphique en entonnoir était légèrement asymétrique pour l'exposition aux pesticides.

Les auteurs de cette analyse ont conduit des analyses stratifiées en fonction de certaines caractéristiques pour vérifier si elles expliquaient l'hétérogénéité entre les études et s'il existait des différences entre les groupes. Pour les pesticides, les auteurs ont distingué 12 études cas-témoins (OR = 1,49 ; IC 95 % [1,24-1,78], I^2 = 39,6 %) de 3 études de cohorte (OR = 1,35 ; IC 95 % [0,74-2,47], I^2 = 46,0 %) avec des résultats similaires. En revanche, l'association était plus forte chez les hommes (OR = 1,96 ; IC 95 % [1,50-2,55], 5 études, I^2 = 0,0 %) que chez les femmes (OR = 1,42 ; IC 95 % [1,04-1,96], 3 études, I^2 = 0,0 %). Elle était également plus forte pour 5 études ayant défini les cas à partir des critères cliniques El Escorial (OR = 1,63 ; IC 95 % [1,24-2,13], I^2 = 50,8 %) que 10 autres études n'ayant pas utilisé ces critères (OR = 1,23 ; IC 95 % [1,08-1,40], I^2 = 0,2 %). Enfin, l'association était plus forte pour 4 études ayant évalué l'exposition aux pesticides par des experts (OR = 2,04 ; IC 95 % [1,12-3,70], I^2 = 70,6 %) que pour 11 autres études reposant sur l'auto-déclaration de l'exposition (OR = 1,40 ; IC 95 % [1,19-1,66], I^2 = 20,8 %).

Une autre méta-analyse, dont les mêmes résultats ont été publiés en 2018 et 2019 dans deux articles différents (Gunnarsson et Bodin, 2018 ; Gunnarsson et Bodin, 2019), a inclus des articles vérifiant certains critères de qualité définis par les auteurs à partir du type d'étude (cas-témoins *versus*

cohorte) et des méthodes employées pour établir le diagnostic, identifier les participants, évaluer l'exposition et conduire l'analyse. Cinq études dont la plus récente était publiée en 2010 ont été prises en compte et toutes étaient incluses dans la méta-analyse de 2014 (Kang et coll., 2014) ; une portait sur le métier d'agriculteur et fournissait des estimations chez les hommes et les femmes séparément (Gunnarsson et coll., 1991) et cinq portaient sur l'exposition aux pesticides. Ces caractéristiques étaient associées avec la SLA (OR = 1,35 ; IC 95 % [1,02-1,79], I^2 = 57,8 %).

Études cas-témoins

Une étude cas-témoins hospitalière dans l'État de Pennsylvanie aux États-Unis a inclus 66 cas qui ont été appariés à 66 témoins (principalement recrutés parmi des patients consultant les mêmes services de neurologie que les cas mais pour d'autres motifs) sur l'âge, le sexe et l'origine ethnique (Malek et coll., 2014). Un historique professionnel et l'exposition professionnelle aux pesticides et à d'autres nuisances ont été recueillis. Il n'y avait pas de différence significative dans le niveau d'études entre les cas et les témoins. En revanche, de manière inattendue, les cas avaient été moins souvent fumeurs que les témoins. Les cas avaient été exposés professionnellement aux pesticides plus souvent que les témoins (OR = 3,17 ; IC 95 % [1,27-7,93]). La principale limite de cette étude est sa petite taille et le recrutement hospitalier des cas et des témoins avec un risque de biais de sélection. En effet, les études qui reposent sur des cas et témoins identifiés dans des services hospitaliers comportent un risque de biais de sélection en raison de différences pour la zone d'attraction qui peut être différente en fonction des pathologies ; ces différences peuvent potentiellement entraîner des différences pour l'exposition des cas et témoins aux pesticides dans la mesure où celle-ci dépend de leur endroit de résidence.

Une étude cas-témoins hospitalière dans l'État du Michigan aux États-Unis a inclus 66 cas qui ont été appariés à 66 témoins volontaires sur l'âge et le sexe (Yu et coll., 2014). Un historique professionnel et l'exposition professionnelle et domestique aux pesticides ont été recueillis. Les témoins avaient un niveau d'études beaucoup plus élevé que les cas, ce qui pourrait suggérer un biais de sélection lié au mode de recrutement des témoins. De même, les auteurs retrouvaient dans les modèles multivariés, de manière inattendue, une association inverse, bien que non significative, avec le tabagisme. Les cas avaient utilisé des engrais pour leur jardin (OR = 2,97 ; IC 95 % [0,81-10,9]) et été exposés professionnellement aux pesticides (OR = 6,95 ; IC 95 % [1,23-39,10]) plus souvent que les témoins (nombres

de cas et témoins exposés non disponibles). Ces auteurs ont poursuivi leur étude sur la même population, en incluant davantage de participants (156 cas et 128 témoins), afin d'explorer l'association entre l'exposition professionnelle et environnementale aux polluants (y compris les pesticides) et le risque de SLA (Su et coll., 2016). Les témoins avaient toujours un niveau d'études plus élevé et vivaient également plus fréquemment à proximité du centre hospitalier que les cas. L'exposition auto-déclarée aux pesticides, dans le cadre professionnel, était associée à une augmentation de risque de SLA (OR = 5,09 ; IC 95 % [1,85-14,0]) de même ordre que dans l'étude précédente sur cette population. Une centaine de composés (pesticides organochlorés, biphényles polychlorés et polybromodiphényléthers) ont été mesurés dans le sang de 129 cas et 119 témoins. Après une procédure multivariée de sélection de variables, 10 composés ont été retenus dans le modèle, dont 7 (2 pesticides organochlorés – pentachlorobenzène et *cis*-chlordane –, 3 biphényles polychlorés, 2 polybromodiphényléther) associés significativement à la SLA, avec une association inverse pour 2 d'entre eux (1 biphényle polychloré et 1 polybromodiphényléther). Le dosage des composés ayant été réalisé après le début de la maladie, on ne peut exclure un impact de la maladie sur les valeurs mesurées, notamment par relargage des composés dans une situation d'amaigrissement ; la durée d'évolution des cas n'étant pas disponible dans la publication, il n'est pas possible de savoir si les dosages ont été réalisés à proximité ou à distance du diagnostic. Comme pour l'analyse précédente, un biais de sélection possible des témoins et la taille limitée de l'étude sont des limites sérieuses pour l'interprétation de ces résultats.

Au Danemark, les cas de SLA (n = 1 826) ont été identifiés entre 1982 et 2013 dans un registre hospitalier national (Dickerson et coll., 2018). Cent témoins par cas (n = 182 600) ont été identifiés dans un registre de la population danoise et appariés sur l'âge, le sexe et le statut vital à la date d'identification du cas. L'historique professionnel des cas et témoins était disponible depuis 1964 auprès du registre danois des retraites et a permis de déterminer l'ensemble des métiers exercés au moins 3 ans avant la date d'incidence du cas et d'appariement pour les témoins. Les analyses ont été conduites séparément chez les hommes et les femmes et ajustées sur le statut marital, la région de résidence et un indicateur de statut économique. Le tabagisme n'a pu être pris en compte directement ; mais des analyses de sensibilité ajustant sur la bronchite chronique obstructive ont été réalisées afin de tenir compte indirectement de ce facteur. Les hommes employés dans les secteurs de l'agriculture, forêt, chasse, ou pêche avaient un risque augmenté de SLA (OR = 1,21 ; IC 95 % [1,02-1,45]) ; l'OR était de 1,20 (IC 95 % [0,99-1,44]) pour l'agriculture. Les associations étaient plus fortes pour ceux ayant exercé ce métier moins d'un an (11,1 % des cas et 9,2 %

des témoins ; OR = 1,28 ; IC 95 % [1,04-1,58]) ou de 1 à 4 ans (4,2 % des cas et 3,4 % des témoins ; OR = 1,36 ; IC 95 % [0,99-1,87]). Il n'existait pas d'association pour ceux ayant travaillé 5 ans ou plus dans ces secteurs (1,2 % des cas et 2,0 % des témoins ; OR = 0,64 ; IC 95 % [0,36-1,14]), mais on peut néanmoins noter que la proportion de cas et témoins exposés était très faible pour cette catégorie. Chez les femmes ayant travaillé dans les secteurs de l'agriculture, forêt, chasse, ou pêche, l'OR était de 1,15 (IC 95 % [0,86-1,53]) et de 1,11 (IC 95 % [0,82-1,51]) pour celles ayant travaillé en agriculture. L'ajustement sur la bronchite chronique obstructive ne modifiait pas ces résultats. Pour expliquer ces associations, les auteurs mentionnent les pesticides, mais aussi l'exposition au plomb et les fumées diesel.

Une étude avec des méthodes très similaires a été conduite en Suède (5 020 cas, 25 100 témoins) (Peters et coll., 2017). Une matrice emploi-exposition était disponible pour 12 nuisances, mais n'a pas permis d'évaluer l'exposition aux pesticides. Il n'existait pas d'association entre les secteurs de l'agriculture, forêt, ou pêche et la SLA (OR = 0,91 ; IC 95 % [0,80-1,03]), mais des analyses séparées chez les hommes et les femmes ne sont pas mentionnées.

En Italie, une étude cas-témoins en population générale dans deux régions a inclus 703 cas et 2 737 témoins dans l'objectif d'analyser le rôle de l'exposition environnementale aux pesticides (Vinceti et coll., 2017). Un historique résidentiel a été obtenu et les adresses des participants ont été géocodées. La proportion de terre agricole et la présence de cultures spécifiques (vignes, vergers, légumes, oliviers, céréales) à une distance ≤ 100 ou 1 000 mètres des adresses ont été déterminées. Il n'existait pas d'association entre la présence ou la surface de cultures, quelles qu'elles soient, et la SLA dans l'ensemble et dans chaque région ; les deux distances de 100 ou 1 000 mètres conduisaient à des résultats similaires. À noter que les analyses n'étaient pas ajustées sur le métier d'agriculteur ou l'utilisation professionnelle de pesticides ni sur le tabagisme.

En Espagne, une étude cas-témoins hospitalière a inclus 383 cas et 383 témoins appariés sur l'âge et le sexe, identifiés parmi les autres patients consultant le même service de neurologie dans lequel les patients ont été pris en charge (Povedano et coll., 2018). Les auteurs ont estimé la distance entre le domicile des participants et les terres agricoles les plus proches et analysé les données à l'aide d'un modèle bayésien ajusté sur le sexe, l'âge, l'année de diagnostic, les antécédents familiaux et un indicateur de désavantage social. Les patients qui vivaient à moins de 100 mètres de terres agricoles avaient un risque augmenté de SLA (OR = 5,48 ; IC 95 % [1,28-25,23]) ; cette association était moins forte pour les patients

vivant entre 100 et 199 mètres (OR = 1,56 ; IC 95 % [0,81-3,01]) et disparaissait pour ceux vivant à plus de 200 mètres (OR = 0,91 ; IC 95 % [0,49-1,67]). L'absence d'ajustement sur le tabagisme et un indicateur d'exposition professionnelle, de même que la nature hospitalière de cette étude limitent l'interprétation des résultats.

Aux États-Unis, une étude cas-témoins hospitalière a recruté entre 2009 et 2015 des cas incidents de SLA (n = 295) qui ont été comparés à des témoins (n = 224) atteints d'autres maladies neurologiques (sclérose en plaques, tumeurs cérébrales et de la moelle épinière, épilepsie, neuropathies périphériques) (Andrew et coll., 2017). Le taux de participation était de 90 % pour les patients et de 52 % pour les témoins. Un historique professionnel a été recueilli et les participants ont été interrogés sur l'utilisation de pesticides dans le cadre des activités de loisir ou du travail. Les cas (13 %) avaient été exposés plus souvent que les témoins (4 %) aux pesticides (OR = 3,44 ; IC 95 % [1,60-8,29]) sans précision sur l'origine de l'exposition. Le métier d'agriculteur ne faisait pas partie de la liste de métiers évaluée par les investigateurs. Une limite de cette étude tient à son caractère hospitalier qui ne tient pas compte de différences potentielles dans la zone d'attraction des hôpitaux qui peut être différente en fonction des pathologies. La différence importante dans le taux d'acceptation entre cas et témoins est également une limite de l'étude, les témoins ayant accepté de participer pouvant avoir des caractéristiques différentes des cas ayant accepté, notamment quant à leurs caractéristiques socio-économiques et professionnelles.

Études de cohorte

Dans la *Netherlands cohort study*, 58 279 hommes et 62 573 femmes ont été inclus en 1986 alors qu'ils étaient âgés de 55 à 69 ans et suivis pendant au maximum 17,3 ans ; 136 (76 hommes, 60 femmes) cas de SLA ont été identifiés à partir des certificats de décès (Koeman et coll., 2017). Un historique professionnel combiné à une matrice emploi-exposition a permis de déterminer l'exposition aux pesticides (7 hommes et 3 femmes exposés parmi les cas), insecticides (6 hommes et 3 femmes exposés parmi les cas), herbicides (3 hommes et 2 femmes exposés parmi les cas) et fongicides (6 hommes et 2 femmes exposés parmi les cas). Les cas incidents de SLA ont été comparés à une sous-cohorte de 2 092 hommes et 2 074 femmes. Il n'existait pas d'association significative avec l'exposition aux pesticides ni aux différentes familles, mais les associations étaient de sens différent chez les hommes (pesticides, HR = 0,60 ; IC 95 % [0,27-1,35]) et les femmes (pesticides, HR = 2,03 ; IC 95 % [0,59-7,01]).

En France, une étude réalisée à partir des bases de données de l'Assurance maladie ne s'est pas intéressée spécifiquement à l'exposition aux pesticides mais a comparé l'incidence de la maladie du motoneurone parmi les affiliés à la Mutualité sociale agricole à celle observée parmi les affiliés aux autres régimes d'Assurance maladie afin de déterminer s'il existe une sur-incidence de maladie du motoneurone parmi les agriculteurs français (Kab et coll., 2017a). Les cas de maladie du motoneurone ont été identifiés à l'aide d'un algorithme prenant en compte les remboursements de riluzole (seul traitement médicamenteux disponible et spécifique de cette pathologie), les hospitalisations et les demandes d'affection longue durée (Kab et coll., 2017b). L'incidence de la maladie du motoneurone a été estimée en 2010-2014 parmi les affiliés à la Mutualité sociale agricole (dans l'ensemble et en tenant compte du statut exploitant ou salarié) et aux autres régimes de l'Assurance maladie âgés de plus de 55 ans. Chaque année, environ 150 (70 % exploitants, 30 % salariés) et 1 600 cas incidents de maladie du motoneurone ont été identifiés parmi les affiliés à la Mutualité sociale agricole et aux autres régimes d'Assurance maladie respectivement. Après ajustement sur l'âge et le sexe, l'incidence était 1,04 (IC 95 % [0,96-1,13]) fois plus élevée à la Mutualité sociale agricole que dans les autres régimes ; cette différence était attribuable aux exploitants (RR = 1,08 ; IC 95 % [0,99-1,18]) tandis qu'il n'y avait pas de différence significative pour les salariés (RR = 0,96 ; IC 95 % [0,85-1,09]). En conséquence, l'incidence de la maladie du motoneurone était plus élevée chez les exploitants que chez les salariés (RR = 1,13 ; IC 95 % [0,97-1,31]). Les risques relatifs augmentaient et devenaient significatifs chez les exploitants après ajustement externe sur le tabagisme, les exploitants agricoles fumant moins que la population générale.

Conclusion

Depuis la précédente expertise collective Inserm de 2013, deux méta-analyses ont été réalisées, rassemblant des études publiées en 2012 ou avant et déjà prises en compte dans l'expertise collective précédente. Ces méta-analyses retrouvent une association entre l'exposition aux pesticides, principalement d'origine professionnelle, et la SLA. Il est cependant difficile d'éliminer un biais de publication.

Parmi les nouvelles études, certaines, mais pas toutes, apportent des arguments en faveur d'une association entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la SLA. Elles sont cependant hétérogènes, notamment par rapport à l'évaluation des expositions et la prise en compte des facteurs de confusion. Deux études de cohorte ont été publiées : l'une ne retrouve pas d'association

mais repose sur un petit nombre de cas exposés et l'autre ne porte pas sur l'exposition aux pesticides, mais a montré une tendance à l'augmentation de l'incidence de la SLA chez les exploitants agricoles français par rapport à la population générale. Seules deux études se sont intéressées au rôle de l'exposition environnementale et ne permettent pas de conclure en raison de résultats discordants.

Bien qu'elles apportent des informations complémentaires, ces nouvelles études ne modifient pas sensiblement les conclusions de l'expertise collective de 2013. Des études de grande taille et comportant une évaluation de l'exposition plus précise (type de produits, durée d'exposition) demeurent nécessaires afin de mieux caractériser la relation entre l'exposition professionnelle aux pesticides et la SLA et de déterminer si l'exposition environnementale joue un rôle.

Références

• Étude financée par un industriel des phytosanitaires

Ahmadzai P, Kab S, Vlaar T, *et al*. Age-dependent sex ratios of motor neuron disease: French nationwide study and meta-analysis. *Neurology* 2018 ; 90 : e1588-e1595.

Ajdacic-Gross V, Schmid M, Tschopp A, *et al*. Birth cohort effects in neurological diseases: amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease and multiple sclerosis. *Neuroepidemiology* 2012 ; 38 : 56-63.

Andrew AS, Caller TA, Tandan R, *et al*. Environmental and occupational exposures and amyotrophic lateral sclerosis in New England. *Neurodegener Dis* 2017 ; 17 : 110-6.

Armon C. Smoking is a cause of ALS. High LDL-cholesterol levels? Unsure. *Ann Neurol* 2019 ; 85 : 465-9.

Burns CJ, Beard KK, Cartmill JB. Mortality in chemical workers potentially exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1945-94 : an update. *Occup Environ Med* 2001 ; 58 : 24-30. •

Dickerson AS, Hansen J, Kioumourtzoglou M-A, *et al*. Study of occupation and amyotrophic lateral sclerosis in a Danish cohort. *Occup Environ Med* 2018 ; 75 : 630-8.

Fang F, Kwee LC, Allen KD, *et al*. Association between blood lead and the risk of amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Epidemiol* 2010 ; 171 : 1126-33.

Fang F, Valdimarsdóttir U, Bellocco R, *et al*. Amyotrophic lateral sclerosis in Sweden, 1991-2005. *Arch Neurol* 2009a ; 66 : 515-9.

Fang F, Kamel F, Lichtenstein P, *et al.* Familial aggregation of amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 2009b ; 66 : 94-9.

Gallo V, Vanacore N, Bueno-de-Mesquita HB, *et al.* Physical activity and risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis in a prospective cohort study. *Eur J Epidemiol* 2016 ; 31 : 255-66.

Gordon PH, Artaud F, Aouba A, *et al.* Changing mortality for motor neuron disease in France (1968-2007): an age-period-cohort analysis. *Eur J Epidemiol* 2011 ; 26 : 729-37.

Gunnarsson LG, Lindberg G, Söderfeldt B, *et al.* Amyotrophic lateral sclerosis in Sweden in relation to occupation. *Acta Neurol Scand* 1991 ; 83 : 394-8.

Gunnarsson L-G, Bodin L. Occupational exposures and neurodegenerative diseases-A systematic literature review and meta-analyses. *Int J Environ Res Public Health* 2019 ; 16 : E337.

Gunnarsson L-G, Bodin L. Amyotrophic lateral sclerosis and occupational exposures: A systematic literature review and meta-analyses. *Int J Environ Res Public Health* 2018 ; 15 : pii : E2371.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1001 p.

Kab S, Moisan F, Elbaz A. Farming and incidence of motor neuron disease: French nationwide study. *Eur J Neurol* 2017a ; 24 : 1191-5.

Kab S, Moisan F, Preux P-M, *et al.* Nationwide incidence of motor neuron disease using the French health insurance information system database. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener* 2017b ; 18 : 426-33.

Kamel F, Umbach DM, Bedlack RS, *et al.* Pesticide exposure and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotoxicology* 2012 ; 33 : 457-62.

Kamel F, Umbach DM, Hu H, *et al.* Lead exposure as a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis. *Neurodegener Dis* 2005 ; 2 : 195-201.

Kang H, Cha ES, Choi GJ, *et al.* Amyotrophic lateral sclerosis and agricultural environments: a systematic review. *J Korean Med Sci* 2014 ; 29 : 1610-7.

Koeman T, Slottje P, Schouten LJ, *et al.* Occupational exposure and amyotrophic lateral sclerosis in a prospective cohort. *Occup Environ Med* 2017 ; 74 : 578-85.

Logroscino G, Traynor BJ, Hardiman O, *et al.* Descriptive epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: new evidence and unsolved issues. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008 ; 79 : 6-11.

Malek AM, Barchowsky A, Bowser R, *et al.* Environmental and occupational risk factors for amyotrophic lateral sclerosis: a case-control study. *Neurodegener Dis* 2014 ; 14 : 31-8.

Malek AM, Barchowsky A, Bowser R, *et al.* Pesticide exposure as a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis: a meta-analysis of epidemiological studies: pesticide exposure as a risk factor for ALS. *Environ Res* 2012 ; 117 : 112-9.

Marin B, Boumédiene F, Logroscino G, *et al.* Variation in worldwide incidence of amyotrophic lateral sclerosis: a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2017 ; 46 : 57-74.

McGuire V, Longstreth WT, Nelson LM, *et al*. Occupational exposures and amyotrophic lateral sclerosis. A population-based case-control study. *Am J Epidemiol* 1997 ; 145 : 1076-88.

Mostafalou S, Abdollahi M. Pesticides: an update of human exposure and toxicity. *Arch Toxicol* 2017 ; 91 : 549-99.

Murphy M, Quinn S, Young J, *et al*. Increasing incidence of ALS in Canterbury, New Zealand: a 22-year study. *Neurology* 2008 ; 71 : 1889-95.

Nakken O, Lindstrøm JC, Tysnes O-B, *et al*. Mortality trends of amyotrophic lateral sclerosis in Norway 1951-2014: an age-period-cohort study. *J Neurol* 2016 ; 263 : 2378-85.

Noonan CW, White MC, Thurman D, *et al*. Temporal and geographic variation in United States motor neuron disease mortality, 1969-1998. *Neurology* 2005 ; 64 : 1215-21.

Peters TL, Kamel F, Lundholm C, *et al*. Occupational exposures and the risk of amyotrophic lateral sclerosis. *Occup Environ Med* 2017 ; 74 : 87-92.

Povedano M, Saez M, Martinez-Matos J-A, *et al*. Spatial assessment of the association between long-term exposure to environmental factors and the occurrence of amyotrophic lateral sclerosis in Catalonia, Spain: a population-based nested case-control study. *Neuroepidemiology* 2018 ; 51 : 33-49.

Pupillo E, Messina P, Giussani G, *et al*. Physical activity and amyotrophic lateral sclerosis: a European population-based case-control study. *Ann Neurol* 2014 ; 75 : 708-16.

Pupillo E, Messina P, Logroscino G, *et al*. Trauma and amyotrophic lateral sclerosis: a case-control study from a population-based registry. *Eur J Neurol* 2012 ; 19 : 1509-17.

Seals RM, Hansen J, Gredal O, *et al*. Age-period-cohort analysis of trends in amyotrophic lateral sclerosis in Denmark, 1970-2009. *Am J Epidemiol* 2013 ; 178 : 1265-71.

Seljeseth YM, Vollset SE, Tysnes OB. Increasing mortality from amyotrophic lateral sclerosis in Norway ? *Neurology* 2000 ; 55 : 1262-6.

Su F-C, Goutman SA, Chernyak S, *et al*. The role of environmental toxins on ALS: a case-control study of occupational risk factors. *JAMA Neurol* 2016 ; 73 : 803-11.

Vinceti M, Filippini T, Violi F, *et al*. Pesticide exposure assessed through agricultural crop proximity and risk of amyotrophic lateral sclerosis. *Environ Health* 2017 ; 16 : 91.

Visser AE, Rooney JPK, D'Ovidio F, *et al*. Multicentre, cross-cultural, population-based, case-control study of physical activity as risk factor for amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2018 ; 89 : 797-803.

Wang H, O'Reilly ÉJ, Weisskopf MG, *et al*. Smoking and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a pooled analysis of 5 prospective cohorts. *Arch Neurol* 2011 ; 68 : 207-13.

Watanabe Y, Watanabe T. Meta-analytic evaluation of the association between head injury and risk of amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Epidemiol* 2017 ; 32 : 867-79.

Weisskopf MG, Morozova N, O'Reilly EJ, *et al*. Prospective study of chemical exposures and amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009 ; 80 : 558-61.

Yu Y, Su F-C, Callaghan BC, *et al*. Environmental risk factors and amyotrophic lateral sclerosis (ALS): a case-control study of ALS in Michigan. *PLoS One* 2014 ; 9 : e101186.

II

Pathologies cancéreuses

9
Cancers de l'enfant

Dans l'expertise collective de l'Inserm intitulée « Pesticides : Effets sur la santé », publiée en 2013, un chapitre était consacré aux résultats des études épidémiologiques sur le rôle de l'exposition aux pesticides dans la survenue des cancers de l'enfant (Inserm, 2013). Les études considérées étaient principalement des études cas-témoins et des études de cohortes publiées avant 2011, et parfois très anciennes. La plupart des recherches épidémiologiques sur le lien entre l'exposition aux pesticides et les cancers de l'enfant ont porté sur les leucémies aiguës et les tumeurs du système nerveux central (SNC), qui constituent les deux formes principales de cancers diagnostiqués avant l'âge de 15 ans.

Après une introduction sur les cancers de l'enfant, nous reviendrons rapidement sur les conclusions de cette expertise concernant les leucémies aiguës et les tumeurs du SNC, puis une actualisation des données épidémiologiques à partir des résultats des études publiées plus récemment sera présentée. Les conclusions des études sur la proximité des cultures, qui sont relativement récentes et qui n'avaient pas été évoquées dans l'expertise collective de 2013 seront analysées. Enfin, nous évoquerons les résultats des études, moins nombreuses, concernant les autres types de cancers de l'enfant.

Cancers de l'enfant : quelques repères

En France, le Registre national des cancers de l'enfant (RNCE)[22] recense environ 1 700 nouveaux cas de cancers de l'enfant diagnostiqués chaque année chez les enfants de moins de 15 ans. Ce nombre correspond à un taux d'incidence standardisé sur l'âge de l'ordre de 156 cas par million d'enfants par an, comparable aux taux d'incidence observés globalement en Europe et en Amérique du Nord, même si des différences entre pays persistent pour certains types de cancer (Steliarova-Foucher et coll., 2017). Le taux

22. https://rnce.inserm.fr [consulté le 9 septembre 2020]

d'incidence des cancers de l'enfant est par ailleurs assez stable depuis 2000 en France (Goujon et coll., 2018).

Les principaux types de cancer diagnostiqués chez les enfants sont les leucémies aiguës (LA, environ 30 % des nouveaux cas), les tumeurs du SNC (environ 25 %), les lymphomes (environ 10 %) et les tumeurs embryonnaires (environ 20 %, répartis en neuroblastomes, néphroblastomes, rhabdomyosarcomes, rétinoblastomes et hépatoblastomes).

De par le monde, les cancers sont une des causes principales de décès chez les enfants. En France en particulier, ils sont la deuxième cause de décès chez les 1-14 ans, après les accidents. Malgré une importante amélioration de la survie ces dernières décennies, il y a une forte hétérogénéité entre les différents types de cancers de l'enfant. Alors que, d'après le RNCE, la probabilité de survie à 5 ans après le diagnostic est estimée à plus de 80 % globalement en France sur une période récente (2000-2014) et les dernières analyses de l'étude EUROCARE estiment le taux à 78 % en Europe sur la période 2000-2007 (Gatta et coll., 2014), il est inférieur à 70 % par exemple pour les leucémies aiguës myéloïdes et certains sous-types de tumeurs du SNC. Des différences de survie, parfois importantes, existent également entre les pays, y compris en Europe (Gatta et coll., 2014).

Le taux d'incidence des cancers de l'enfant varie selon l'âge et le type de cancer. Ainsi, pour les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL, environ 80 % des LA), l'incidence présente un pic bien marqué autour de 2 ans, tandis que l'incidence des leucémies aiguës myéloïdes (LAM, environ 15 % des LA) est un peu plus élevée avant un an. Les tumeurs embryonnaires sont des tumeurs du très jeune enfant, qui surviennent pour plus de la moitié des cas avant 5 ans. Au contraire, peu de cas de lymphomes et de tumeurs osseuses sont diagnostiqués avant 5 ans, l'incidence augmentant avec l'âge. Pour les tumeurs du SNC, globalement, l'incidence est relativement stable entre 0 et 14 ans.

Dans la plupart des registres de cancers pédiatriques à travers le monde, les cas sont codés selon la classification internationale des maladies en oncologie (CIM-O), et regroupés par types de cancers selon les catégories définies par la classification internationale des cancers de l'enfant (ICCC). Des hétérogénéités de pratiques sont souvent observées entre les pays et entre les périodes, ce qui rend parfois difficile la comparaison des résultats des études épidémiologiques. Certaines études sont en effet menées sur des périodes anciennes et parfois très longues, au cours desquelles les pratiques diagnostiques et d'enregistrement des cas se sont nettement améliorées.

Des étiologies différentes sont suspectées selon les types de cancers de l'enfant. Les facteurs de risque qui sont établis à l'heure actuelle pour les

principaux groupes diagnostiques sont les radiations ionisantes à fortes doses, certaines maladies ou syndromes génétiques rares, certaines chimiothérapies et certains virus (pour les lymphomes en particulier). Parmi les facteurs de risque fortement suspectés de jouer un rôle dans la survenue des cancers de l'enfant, on peut citer des prédispositions génétiques, certaines caractéristiques périnatales, des infections et l'exposition aux contaminants environnementaux, en particulier la pollution liée au trafic routier et les pesticides.

Leucémies aiguës de l'enfant

Résumé et conclusions de l'expertise collective Inserm de 2013

Exposition professionnelle des parents

En 2009, la méta-analyse de Wigle et coll. regroupant les données de 31 études (26 études cas-témoins, 5 cohortes d'enfants d'agriculteurs) concluait à un doublement du risque de leucémies aiguës chez les enfants dont les mères avaient été exposées professionnellement aux pesticides pendant leur grossesse, par rapport au risque estimé pour les enfants nés de mères non exposées (méta RR = 2,09 ; IC 95 % [1,51-2,88] ; 14 études) (Wigle et coll., 2009). Une augmentation du même ordre de grandeur était rapportée pour les deux principaux types de leucémies aiguës, les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL ; méta RR = 2,64 ; IC 95 % [1,40-5,00] ; 5 études) et les leucémies aiguës myéloïdes (LAM ; méta RR = 2,64 ; IC 95 % [1,48-4,71] ; 4 études). Quelques études ayant considéré plus particulièrement les grandes catégories de pesticides en lien avec la survenue de LA chez l'enfant (sans distinction LAL/LAM) ont montré une association positive avec l'exposition professionnelle de la mère pendant la grossesse aux insecticides (méta RR = 2,72 ; IC 95 % [1,47-5,04] ; 6 études) ainsi qu'aux herbicides (méta RR = 3,62 ; IC 95 % [1,28-10,3] ; 2 études). Pour l'ensemble de ces résultats, aucune hétérogénéité entre les études n'était rapportée.

Une deuxième méta-analyse (Van Maele-Fabry et coll., 2010), ayant plusieurs études en commun avec la méta-analyse de Wigle et coll., a rapporté des associations positives avec l'exposition professionnelle de la mère pendant la grossesse (toutes LA, méta RR = 1,62 ; IC 95 % [1,22-2,16] ; 10 études), notamment pour les LAM (méta RR = 2,68 ; IC 95 % [1,06-6,70] ; 2 études), sans hétérogénéité entre les études. Aucune association n'était observée pour les LAL (méta RR = 1,34 ; IC 95 % [0,70-2,59] ; 4 études).

Malgré une forte hétérogénéité entre les études, rapportées dans les deux méta-analyses précédentes (indice d'hétérogénéité $I^2 > 80$ %), l'exposition

professionnelle du père aux pesticides ne semblait pas associée au risque de LA chez l'enfant : méta RR = 1,09 ; IC 95 % [0,88-1,34] ; 27 études (Wigle et coll., 2009) et méta RR = 1,14 ; IC 95 % [0,76-1,69] ; 10 études (Van Maele-Fabry et coll., 2010). Notons que des associations positives étaient suggérées dans les analyses stratifiées sur la période d'exposition (avant ou pendant la grossesse) ou la famille de pesticides (insecticides, herbicides, fongicides), le nombre d'études incluses dans ces analyses étant toutefois plus limité.

Exposition domestique

Le rôle de l'exposition domestique aux pesticides de la mère pendant la grossesse et de l'enfant après sa naissance a également été étudié. Deux méta-analyses ont permis de synthétiser les résultats des études publiées jusqu'en 2009 (Turner et coll., 2010 ; Van Maele-Fabry et coll., 2011). Une association positive entre l'exposition domestique aux pesticides et le risque de leucémies chez l'enfant a ainsi été rapportée, aussi bien pour une exposition de la mère pendant la grossesse (méta OR = 1,54 ; IC 95 % [1,13-2,11] ; 11 études dans Turner et coll. ; méta RR = 2,19 ; IC 95 % [1,92-2,50] ; 9 études dans Van Maele-Fabry et coll.) que pour l'exposition de l'enfant avant le diagnostic (méta OR = 1,38 ; IC 95 % [1,12-1,70] ; 9 études dans Turner et coll. ; méta RR = 1,65 ; IC 95 % [1,33-2,05] ; 6 études dans Van Maele-Fabry et coll.). Cette augmentation du risque avec l'exposition domestique était observée pour les LAL dans les deux méta-analyses, mais uniquement dans la méta-analyse de Van Maele-Fabry et coll. pour les leucémies non lymphoblastiques, qui sont très majoritairement des LAM (méta OR = 1,44 ; IC 95 % [0,81-2,59] ; 3 études dans Turner et coll. ; méta RR = 2,30 ; IC 95 % [1,53-3,45] ; 3 études dans Van Maele-Fabry et coll.). De même, les deux méta-analyses n'étaient pas totalement concordantes concernant le rôle particulier de l'exposition aux insecticides et aux herbicides, seule l'exposition aux insecticides étant retrouvée associée au risque de LA dans les deux méta-analyses. Notons toutefois que les résultats étaient souvent hétérogènes entre les études considérées dans ces travaux.

Sur la base de ces résultats, l'expertise collective de 2013 avait conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition professionnelle et domestique aux pesticides (insecticides et herbicides) de la mère pendant la grossesse et le risque de leucémie chez l'enfant (sans distinction LAL/LAM). De même, l'exposition domestique pendant l'enfance était associée au risque de leucémie avec une présomption forte.

Nouvelles données épidémiologiques

Exposition professionnelle des parents

En 2014, dans le cadre des travaux de recherche menés par le consortium international sur les leucémies de l'enfant (*Childhood Leukemia International Consortium* ; CLIC), Bailey et coll. ont publié les résultats d'un travail réalisé à partir de 13 études, avec plus de 8 000 cas de LA et 14 000 témoins inclus (Bailey et coll., 2014). Une matrice emploi-exposition a été développée spécialement dans le cadre de ce projet afin d'homogénéiser les variables d'exposition. Les auteurs ont considéré dans un premier temps les résultats des 13 études dans des analyses poolées basées sur cette matrice emploi-exposition. Une méta-analyse globale de ces études a également été réalisée et a conduit à des résultats très semblables. Dans un second temps, les auteurs ont inclus les études des deux méta-analyses précédentes (Wigle et coll., 2009 ; Van Maele-Fabry et coll., 2010) qui ne font pas partie du CLIC, ainsi que les études plus récentes, publiées entre 2009 et 2013 (soit 15 études supplémentaires). Ce travail a permis de montrer une augmentation du risque de LAM chez les enfants dont les mères ont été plus exposées professionnellement aux pesticides pendant la grossesse (méta OR = 3,30 ; IC 95 % [2,15-5,06] dans l'analyse complète sur 9 études ; méta OR = 2,69 ; IC 95 % [1,49-4,86] avec les 5 études du CLIC). Concernant le risque de LAL, les résultats des études étaient plus hétérogènes et ne semblaient pas indiquer d'association avec l'exposition professionnelle de la mère aux pesticides pendant la grossesse (méta OR = 1,35 ; IC 95 % [0,96-1,89] dans l'analyse complète sur 18 études ; méta OR = 1,01 ; IC 95 % [0,78-1,30] avec les 12 études du CLIC).

Cette étude suggérait également une association positive entre l'exposition professionnelle du père aux pesticides un an avant la grossesse et le risque de LAL chez l'enfant, avec une augmentation du risque de 23 % dans la catégorie la plus exposée par rapport à la catégorie de référence (méta OR = 1,23 ; IC 95 % [0,99-1,53] ; 14 études). Une forte hétérogénéité entre les études était toutefois rapportée. Cette association était plus marquée pour les LAL chez les enfants de 5 ans et plus (OR poolé = 1,38 ; IC 95 % [1,13-1,67]) que pour les plus jeunes (OR poolé = 1,18 ; IC 95 % [0,77-1,79] pour les 0-1 an ; OR poolé = 1,02 ; IC 95 % [0,83-1,24] pour les 2-4 ans). Les auteurs concluent également à une association plus marquée pour les LAL à cellules T que pour les LAL à cellules B, qui représentent 80 % des LAL. Ces résultats étaient observés dans la méta-analyse des études du CLIC (méta OR = 1,86 ; IC 95 % [1,34-2,58], 10 études I^2 = 5 %, pour les LAL T ; méta OR = 1,14 ; IC 95 % [0,85-1,54], 12 études I^2 = 71 %, pour les LAL B) mais la différence entre les sous-types de LAL

n'était pas si nette dans l'étude poolée (respectivement OR = 1,42 ; IC 95 % [1,04-1,94] et OR = 1,19 ; IC 95 % [1,03-1,37]).

Une étude cas-témoins réalisée en Californie sur la période 1995-2008 a évalué l'association entre l'exposition professionnelle des parents aux pesticides pendant la période périnatale et la survenue d'une LAL chez leurs enfants (Gunier et coll., 2017). L'étude s'est concentrée sur l'exposition pour la période entre un an avant la naissance de l'enfant et sa troisième année de vie et comprenait 669 cas de LAL et 1 021 témoins. Les auteurs ont mis en évidence une association positive entre l'exposition professionnelle du père et le risque de LAL (OR = 1,7 ; IC 95 % [1,2-2,5]), tandis qu'aucune association n'était observée avec l'exposition professionnelle de la mère pendant la période périnatale (OR = 1,3 ; IC 95 % [0,8-2,4]). Dans cette étude, l'exposition professionnelle aux pesticides a été définie à partir d'informations provenant de questionnaires très détaillés sur les emplois occupés par les parents et les tâches réalisées dans le cadre de ces emplois. Selon cette approche, la prévalence d'exposition professionnelle aux pesticides était inférieure de moitié à la prévalence estimée à partir de la matrice emploi-exposition développée par Bailey et coll. (2014) (8,2 % *versus* 15,4 %, si on considère l'exposition paternelle en période périnatale, avec 7 % des pères exposés de manière concordante selon les deux approches), les différences de classement observées étant dues aussi bien à des passages de la catégorie exposée à non exposée que l'inverse.

Récemment, une étude de cohorte menée dans le cadre du consortium I4C (*International Childhood Cancer Cohort Consortium*) a rassemblé les données de 5 pays, soit plus de 300 000 enfants, afin d'étudier le lien entre l'exposition professionnelle des parents pendant la grossesse aux pesticides, aux poussières organiques et aux animaux et le risque de cancers chez l'enfant (Patel et coll., 2020a). Du fait de la faible prévalence, seule l'exposition professionnelle paternelle aux pesticides a été prise en compte (4 % pour l'exposition paternelle, 1 % pour l'exposition maternelle). Les résultats, basés sur de très faibles effectifs (moins de 5 cas exposés), suggéraient une augmentation du risque de LAM chez l'enfant lors d'une exposition professionnelle du père aux pesticides en général (HR = 2,62 ; IC 95 % [0,91-7,55]), ainsi qu'aux fongicides, herbicides et insecticides, les expositions étant très corrélées.

Enfin, aucune association entre l'exposition professionnelle des parents aux pesticides et le risque de leucémie chez l'enfant n'a été observée dans une étude suisse publiée très récemment (Coste et coll., 2020b) (HR = 0,79 ; IC 95 % [0,48-1,29] et HR = 0,66 ; IC 95 % [0,29-1,49] pour les expositions paternelle et maternelle, respectivement). Dans cette étude, qui incluait tous les enfants âgés de 0 à15 ans identifiés par les recensements de 1990 et 2000,

la vraisemblance de l'exposition aux pesticides était estimée à partir de l'intitulé de l'emploi des parents (au moment de l'entrée de l'enfant dans la cohorte) et l'utilisation de la matrice emploi-exposition développée par le consortium CLIC. L'interprétation des résultats de cette étude était limitée par la faible prévalence de l'exposition (6,7 % des pères et 2,9 % des mères dans la catégorie « très vraisemblablement exposé aux pesticides ») et un petit nombre de cas (503 cas de LA diagnostiqués avant 2015, dont au plus 24 cas dans la catégorie de plus forte exposition).

Exposition domestique

Depuis 2013, trois nouvelles méta-analyses, ayant plus de la moitié de leurs études en commun, ont fourni de nouvelles estimations concernant le lien entre l'exposition liée aux usages domestiques de produits pesticides et le risque de leucémie chez l'enfant (Bailey et coll., 2015 ; Chen et coll., 2015 ; Van Maele-Fabry et coll., 2019).

La première étude, basée sur les données du consortium CLIC (Bailey et coll., 2015) a mis en évidence une augmentation du risque de LAL chez les enfants dont les mères ont été exposées aux pesticides par usage domestique pendant la grossesse (OR poolé = 1,43 ; IC 95 % [1,32-1,54] ; 9 études), ainsi qu'une augmentation du risque de LAM (OR poolé = 1,55 ; IC 95 % [1,21-1,99] ; 7 études). Des résultats similaires étaient observés avec l'exposition domestique de la mère aux pesticides en période préconceptionnelle (trois mois ou un mois avant la grossesse, selon les études). Une association était également rapportée entre l'exposition de l'enfant aux pesticides liée à des usages domestiques après sa naissance et le risque de LAL (OR poolé = 1,36 ; IC 95 % [1,23-1,51] ; 6 études), mais pas de LAM (OR poolé = 1,08 ; IC 95 % [0,76-1,53] ; 4 études). Les résultats sur les LAL étaient observés également de manière statistiquement significative pour toutes les catégories de pesticides considérées dans cette étude (insecticides, herbicides, fongicides, rodenticides).

Les deux autres méta-analyses, réalisées par Chen et coll. et Van Maele-Fabry et coll., montraient également une augmentation du risque de leucémie chez l'enfant liée à l'exposition domestique aux pesticides. Chen et coll. ont évalué deux périodes d'exposition : une première qui comprenait à la fois la période prénatale et postnatale allant jusqu'au diagnostic, et une deuxième, plus restreinte, de la naissance au diagnostic. Les résultats, qui étaient concordants pour ces deux périodes, ont montré que l'utilisation de pesticides à l'intérieur des habitations était associée à une augmentation de risque de leucémie chez l'enfant (méta OR = 1,48 ; IC 95 % [1,29-1,70] ; 8 études). Une augmentation de risque a également été mise en évidence avec l'exposition aux

pesticides à l'extérieur (méta OR = 1,15 ; IC 95 % [0,95-1,38] ; 6 études), en particulier aux herbicides (méta OR = 1,26 ; IC 95 % [1,10-1,44] ; 5 études).

Van Maele-Fabry et coll. ont réalisé une revue systématique et une méta-analyse qui a examiné divers facteurs, y compris les périodes et les types d'exposition, les catégories de pesticides et l'âge de l'enfant lors du diagnostic. Ils ont montré que l'exposition domestique aux pesticides était associée globalement à une augmentation du risque de LAL (méta OR = 1,42 ; IC 95 % [1,13-1,80] ; 8 études) et de LAM (méta OR = 1,90 ; IC 95 % [1,35-2,67] ; 5 études).

Notons que les résultats présentés ici ne sont pas indépendants de ceux rapportés par Bailey et coll., les études du CLIC étant incluses dans ces deux méta-analyses (Chen et coll., Van Maele-Fabry et coll.), avec une contribution importante.

En 2013, une étude cas-témoins réalisée en Californie (252 cas, 306 témoins), s'est intéressée à l'exposition aux herbicides en lien avec les LAL de l'enfant (Metayer et coll., 2013). Des mesures de 17 herbicides utilisés en Californie (11 à usage professionnel ou agricole, 6 à usage domestique) ont été faites à l'intérieur des habitations, dans les poussières des paillassons, tapis ou sacs d'aspirateurs. Sept pesticides (métolachlore, bromoxynil octanoate, pébulate, butilate, cyanazine, prométryne et éthalfluraline), principalement agricoles, étaient détectés dans moins de 5 % des résidences. Aucune association n'a été observée avec les pesticides les plus fréquemment détectés (c'est-à-dire dans plus de 75 % des prélèvements : simazine, mécoprop et 2,4-D), mais un risque plus important de LAL a été mis en évidence pour les enfants qui résidaient dans les habitations testées positivement pour le chlorthal (OR = 1,52 ; IC 95 % [1,03-2,23], sans relation dose-effet). L'association semblait plus marquée lorsque de l'alachlore était détecté également (OR = 2,56 ; IC 95 % [0,99-6,63]). Ce résultat doit être interprété avec précaution puisqu'il repose sur un petit nombre d'enfants exposés (14 cas et 8 témoins) et un modèle statistique qui comprend 8 variables d'ajustement. Par ailleurs, selon les auteurs, l'association observée avec la présence de chlorthal dans les poussières n'était retrouvée que pour les familles non hispaniques et les familles de plus forts revenus.

Études sur la proximité de cultures

Quatre études menées aux États-Unis (dont deux au Texas) ont évalué la corrélation entre les variations spatiales de l'incidence des LA de l'enfant à l'échelle des comtés et des indicateurs de présence de cultures basés principalement sur des données de recensement agricole (Walker et coll., 2007 ; Carozza et coll., 2008 ; Thompson et coll., 2008 ; Booth et coll., 2015). Dans

ces études, la part de surface agricole utile (SAU) totale, et par type de culture dans certaines études, était rapportée à la superficie du comté. Seule l'étude de Carozza et coll. (2008) montrait un taux d'incidence des LAL et des LAM plus élevé dans les comtés ayant plus de 60 % de leur surface en cultures, par rapport à l'incidence observée dans les comtés pour lesquels la part de SAU est inférieure à 20 % (RR > 60 % = 1,3 ; IC 95 % [1,1-1,4] pour les LAL et RR > 60 % = 1,8 ; IC 95 % [1,4-2,3] pour les LAM). Dans cette étude, ainsi que dans l'étude de Booth et coll., les auteurs ont réalisé des analyses séparées pour plusieurs types de cultures et mis en évidence quelques associations positives particulières : LAL/avoine, LAM/maïs, LAM/soja (Carozza et coll., 2008) ; toutes LA/haricots, LAL/haricots, LAL/betterave, LAM/haricots, LAM/avoine (Booth et coll., 2015).

Une étude récente menée en France métropolitaine s'est intéressée à la corrélation spatiale entre le taux d'incidence des leucémies aiguës de l'enfant sur la période 1990-2014 et la densité de cultures dans les communes (Coste et coll., 2020a). Dans cette étude écologique basée sur les données du RNCE, la densité de culture était définie à partir des données des recensements agricoles comme la part de surface en culture par rapport à la superficie de la commune et 9 catégories de cultures ont été étudiées (arboriculture, viticulture, maïs, céréales, oléagineux, pommes de terre, légumes frais, légumes secs et protéagineux, cultures industrielles). Alors qu'aucune association n'a été mise en évidence avec la densité totale de culture, les analyses par type de culture ont montré une association positive entre la densité de viticulture dans les communes et le taux d'incidence des LAL. Ainsi, le nombre de cas de LAL observés dans les communes ayant une densité de viticulture supérieure à 25 % était plus élevé que le nombre de cas attendus sous l'hypothèse de taux d'incidence homogènes sur tout le territoire (ratio d'incidence standardisé SIR = 1,17 ; IC 95 % [1,01-1,35]), avec une tendance globale correspondant à une augmentation de 3 % (IC 95 % [0 %-6 %]) du SIR pour une variation de 10 % de la densité de viticulture. L'association semblait stable par âge, période, grandes régions, et après ajustement sur plusieurs facteurs de confusion potentiels (degré d'urbanisation, disparité socio-économique, niveau d'UV). Par ailleurs, aucune association n'a été rapportée pour les LAM. Notons que ces résultats doivent être interprétés avec prudence, la proximité entre les lieux de résidence des enfants et les parcelles agricoles n'étant pas prise en compte dans cette étude menée à l'échelle des communes. Une étude cas-témoins en cours, réalisée par la même équipe[23], et basée sur

23. Étude réalisée dans le cadre du projet Geocap Agri, mis en place par l'équipe de recherche Inserm EPICEA (épidémiologie des cancers de l'enfant et de l'adolescent, UMR-S 1153 équipe 7) en collaboration avec Santé publique France afin de répondre à une saisine sur « pesticides agricoles et cancers de l'enfant ».

la géolocalisation des adresses de résidence et une caractérisation fine des parcelles agricoles permettra d'apporter des informations complémentaires, en particulier sur le lien entre la présence de parcelles viticoles à proximité des domiciles et le risque de LAL chez l'enfant.

Trois autres études ont déterminé la présence de cultures à proximité des lieux de résidence des enfants à partir de la géolocalisation des adresses et des informations cartographiques intégrées dans des systèmes d'information géographique. Le voisinage a été défini à l'aide de zones tampons (*buffers*) circulaires de différents rayons (1 km dans Carozza et coll., 2009 et Gomez-Barroso et coll., 2016 ; 100 m dans Malagoli et coll., 2016). Aucune association particulière n'était rapportée dans les études de Carozza et coll. et Malagoli et coll. Les résultats de l'étude menée par Gomez-Barroso et coll. en Espagne sont difficilement interprétables dans la mesure où l'adresse de résidence considérée était celle au moment du diagnostic pour les cas, à la naissance pour les témoins. Notons par ailleurs, que des associations positives ont été rapportées dans cette étude pour 11 groupes et sous-groupes de cancers de l'enfant et pour la plupart des cultures considérées (terres arables et terres irriguées, vergers, vignes, autres cultures).

En 1990, l'État de Californie a mis en place des registres d'utilisation de pesticides agricoles (*Pesticides Use Reporting*) qui permettent d'obtenir des informations sur les substances utilisées, les quantités appliquées, le type de culture sur laquelle les produits sont appliqués et les surfaces concernées. Ces informations, qui sont renseignées pour des secteurs de 1 mile^2, permettent d'estimer la quantité de pesticides utilisée à proximité du lieu de résidence des sujets inclus dans les études épidémiologiques (généralement à l'échelle des *census block* ou dans des zones tampons centrées sur les adresses de résidence de cas et de témoins). Dans trois études sur les cancers de l'enfant, les auteurs ont considéré 4 groupes toxicologiques, 4 classes chimiques et 7 substances actives particulières sélectionnées a priori du fait de leur utilisation importante et de leur potentiel toxique plus élevé (Reynolds et coll., 2002 ; Reynolds et coll., 2005a ; Reynolds et coll., 2005b). Dans deux autres études, une sélection plus large de pesticides a été faite (Rull et coll., 2009 ; Park et coll., 2020). Des regroupements en plusieurs classes toxicologiques, en familles de pesticides et en catégories basées sur les propriétés physicochimiques des substances ont été considérés (12 catégories dans Rull et coll., 2009, 15 dans Park et coll., 2020). Dans l'ensemble, aucune association n'a été mise en évidence de façon consistante dans ces études, un grand nombre de tests statistiques étant généralement considéré. En particulier, alors qu'une première étude rapportait une augmentation d'incidence des leucémies dans les *census block* ayant une utilisation plus importante de l'insecticide propargite

(Reynolds et coll., 2002), sans tendance statistiquement significative avec la quantité d'insecticide utilisée, cette association n'était pas observée pour les LAL, ni pour les leucémies non lymphoblastiques, dans une seconde étude réalisée sur la même période (Reynolds et coll., 2005b). Aucune association avec les autres substances n'était par ailleurs observée. En considérant un indicateur d'exposition moyenne aux pesticides agricoles basé sur l'historique résidentiel et les quantités de substances appliquées au voisinage des résidences, Rull et coll. ont rapporté également des associations positives avec les différents regroupements de substances, mais uniquement dans les catégories d'exposition intermédiaires. Dans les études de Reynolds et coll. (2005a) et Park et coll. (2020), les auteurs s'intéressaient à l'utilisation de pesticides agricoles à proximité du lieu de résidence à la naissance des enfants (études cas-témoins). Quelques associations positives ont été observées, sans qu'il y ait de concordance entre les deux études. Notons toutefois, qu'une association était suggérée pour le métam sodium avec une augmentation du risque de leucémies de l'enfant (LA sans distinction dans Reynolds et coll., 2005a, pour les LAM uniquement dans Park et coll., 2020) en cas d'utilisation plus importante de cette substance à proximité du domicile pendant la grossesse (zones tampons de 0,5 mile et 4 000 m de rayon, respectivement).

Au Danemark, une étude publiée récemment s'est intéressée à la survenue de leucémies et de tumeurs du système nerveux central chez des enfants nés sur la période 1996-2003 (96 841 naissances incluses), en lien avec la présence de cultures et d'animaux de ferme à proximité des domiciles des mères pendant la grossesse (Patel et coll., 2020b). Les auteurs ont estimé la surface en culture et le nombre d'animaux de ferme présents à proximité des adresses de résidence géolocalisées en considérant des zones tampons de différentes tailles (200 m à 2 000 m). À partir de données sur les ventes de pesticides disponibles sur la période d'étude et d'informations sur les usages de pesticides sur les cultures déclarées depuis 2011 par les agriculteurs, ils ont également estimé la quantité de pesticides appliquée sur les cultures situées à proximité de la résidence des femmes pendant la grossesse, en considérant 9 herbicides et un fongicide parmi les plus utilisés en 2011-2012. Avec 61 cas de leucémies diagnostiqués avant l'âge de 15 ans, entre 1996 et 2014, une association positive avec la présence de cultures dans les 500 m autour du domicile a été rapportée (HR = 1,2 ; IC 95 % [1,0-1,3] pour une augmentation de 10 ha de la surface en culture dans la zone tampon). Des associations positives étaient observées avec les surfaces en herbe, et les surfaces utilisées pour la culture des betteraves, des pois et du maïs, mais pas pour les céréales, le colza et les semences, qui sont les cultures les plus fréquentes. Le nombre d'animaux de ferme et la quantité de pesticides appliquée dans la zone tampon n'étaient par ailleurs pas associés au risque de leucémie chez l'enfant.

Conclusion des études récentes sur les leucémies aiguës de l'enfant

Les méta-analyses récentes confirment l'augmentation du risque de LA (LAL et LAM) chez les enfants lors d'une exposition maternelle aux pesticides pendant la grossesse liée à un usage domestique et lors d'une exposition pendant l'enfance. Ces études confirment également l'association positive observée précédemment avec l'exposition maternelle professionnelle pendant la grossesse et le risque de LAM. Une augmentation du risque de LAL est également suggérée en cas d'exposition professionnelle paternelle aux pesticides en période préconceptionnelle.

À l'heure actuelle, les études géographiques s'intéressant à la présence de cultures ou à la quantité de pesticides appliquée à proximité du domicile des enfants sont peu nombreuses et peu concluantes.

Tumeurs du système nerveux central de l'enfant

Résumé et conclusions de l'expertise collective Inserm de 2013

Le lien entre les pesticides et les tumeurs du SNC de l'enfant a été examiné dans l'expertise collective de 2013 en se reposant principalement sur une méta-analyse qui a regroupé les résultats de 19 études s'intéressant à l'exposition professionnelle des parents (Van Maele-Fabry et coll., 2013). Des associations positives ont été observées avec l'exposition professionnelle de la mère (méta OR = 1,39 ; IC 95 % [1,10-1,75] ; 6 études) et du père (méta OR = 1,19 ; IC 95 % [1,03-1,38] ; 13 études) principalement au cours de la période prénatale. Les analyses par sous-type de tumeurs du SNC suggéraient par ailleurs une augmentation du risque de tumeurs astrogliales, les résultats étant statistiquement non significatifs pour les tumeurs embryonnaires du SNC et les autres tumeurs gliales.

Sur la base de ces connaissances, l'expertise collective avait conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition professionnelle aux pesticides du père et de la mère pendant la période prénatale et le risque de tumeurs du SNC chez l'enfant.

Nouvelles données épidémiologiques

Exposition professionnelle des parents aux pesticides

En 2016, une méta-analyse basée sur 3 études cas-témoins réalisées en France, Allemagne et Royaume-Uni n'a montré aucune association positive entre

l'exposition professionnelle des parents aux pesticides et le risque de tumeur du SNC chez l'enfant (Febvey et coll., 2016). Au contraire, les OR estimés dans cette étude étaient inférieurs à 1 pour l'exposition professionnelle paternelle aux pesticides (OR poolé = 0,71 ; IC 95 % [0,53-0,95]). L'exposition professionnelle était déterminée dans les 3 études à partir des intitulés des métiers occupés par les parents, codés selon 3 classifications différentes (classification internationale des métiers ISCO-68 dans l'étude française, classifications nationales KldB-88 et SOC-90 respectivement dans les études allemande et britannique). La prévalence de l'exposition paternelle était par ailleurs bien différente selon les études (11 % en Allemagne, 6 % en France, 2 % au Royaume-Uni) et les résultats concernant l'exposition professionnelle paternelle aux pesticides étaient très hétérogènes (indice d'hétérogénéité I^2 = 68 %). Finalement, les auteurs de ce travail considèrent leur résultat comme pouvant être un résultat faussement positif ou possiblement expliqué par l'association entre le métier du père et un tiers facteur qui reste à identifier et qui serait également associé au risque de tumeurs du SNC chez l'enfant.

L'étude de cohorte de naissance du consortium I4C mentionnée précédemment (Patel et coll., 2020a) ne montrait pas d'association entre l'exposition professionnelle paternelle aux pesticides pendant la grossesse et le risque de tumeurs du SNC chez l'enfant, les résultats étant toutefois peu informatifs du fait du faible nombre de cas exposés (HR = 0,71 ; IC 95 % [0,29-1,75] avec 5 cas exposés). De même, dans l'étude de cohorte suisse basée sur les recensements de population de 1990 et de 2000 (Coste et coll., 2020b), aucune association entre l'exposition professionnelle des parents aux pesticides et le risque de tumeur du SNC chez l'enfant n'était rapportée (339 cas diagnostiqués jusqu'en 2015, 20 cas au plus dans la catégorie « parent très vraisemblablement exposé professionnellement aux pesticides » ; HR = 0,8 ; IC 95 % [0,4-1,3] et HR = 0,7 ; IC 95 % [0,3-1,6] pour les expositions paternelle et maternelle, respectivement).

Exposition domestique aux pesticides

Le rôle de l'exposition aux pesticides due à des usages domestiques dans la survenue des tumeurs du SNC chez l'enfant a fait l'objet de deux méta-analyses récentes (Chen et coll., 2015 ; Van Maele-Fabry et coll., 2017). Nous ne présenterons que la méta-analyse réalisée par Van Maele-Fabry et coll. 2017, les études considérées dans Chen et coll. étant incluses dans cette méta-analyse. En considérant les résultats de 18 études publiées entre 1979 et 2016, les auteurs ont rapporté une association positive entre l'exposition domestique aux pesticides et le risque de tumeurs du SNC chez l'enfant

(méta OR = 1,26 ; IC 95 % [1,13-1,40]). Cette association était également observée lorsque les auteurs considéraient séparément l'exposition en période prénatale et pendant l'enfance. Les analyses par catégorie de pesticides montraient une association positive du même ordre de grandeur avec l'exposition aux insecticides (méta OR = 1,23 ; IC 95 % [1,06-1,42] ; 10 études) et aux herbicides (méta OR = 1,28 ; IC 95 % [0,97-1,70] ; 3 études). Par ailleurs, l'exposition domestique aux pesticides semblait associée au risque de gliomes (méta OR = 1,30 ; IC 95 % [1,09-1,55] ; 5 études), mais pas au risque de tumeurs cérébrales embryonnaires (méta OR = 1,07 ; IC 95 % [0,81-1,41] ; 4 études).

Récemment, à partir des données de deux études cas-témoins réalisées en population générale à l'échelle nationale (études ESCALE et ESTELLE, 437 cas de tumeurs malignes du SNC et 3 102 témoins), une équipe française a mis en évidence une association positive entre l'utilisation de pesticides par la mère durant la grossesse au domicile (variable binaire oui/non) et le risque de tumeur du SNC chez l'enfant (OR poolé = 1,4 ; IC 95 % [1,2-1,8]) (Vidart d'Egurbide Bagazgoitia et coll., 2018). Les pesticides utilisés par les mères étaient majoritairement des insecticides (prévalence 45 % chez les mères des cas *versus* 37 % chez les mères des témoins, OR poolé = 1,4 ; IC 95 % [1,2-1,8]), parfois associés à l'utilisation d'herbicides (prévalence 5,7 % chez les mères des cas *versus* 4,3 % chez les mères des témoins, OR poolé = 1,7 ; IC 95 % [1,1-2,8]).

Études sur la proximité de cultures

Une étude écologique a été réalisée aux États-Unis, à l'échelle des comtés, à partir des données de registres de cancers (25 registres et plus de 1 000 comtés) et de recensements agricoles (Carozza et coll., 2008). Sur la période 1995-2001, 4 318 cas de tumeurs du SNC ont été enregistrés, dont 348 dans les comtés à plus forte activité agricole ($\geq$ 60 % de surface en cultures par rapport à la surface totale). Ces travaux ont mis en évidence une association positive entre l'incidence des tumeurs du SNC de l'enfant et la part de surface en cultures dans les comtés de résidence au moment du diagnostic (part de SAU par rapport à la superficie totale). Ainsi, une augmentation d'incidence de 30 % pour les tumeurs du SNC dans leur ensemble, 50 % pour les astrocytomes, a été observée dans les comtés ayant plus de 60 % de leur superficie en cultures, par rapport au taux d'incidence dans les comtés les moins agricoles (toutes tumeurs du SNC : RR = 1,3 ; IC 95 % [1,1-1,4] ; astrocytomes : RR = 1,5 ; IC 95 % [1,3-1,7]). Les auteurs se sont intéressés à 6 différents types de cultures, en considérant une approche binaire (présence de la culture dans le comté *versus* absence de cette culture

et SAU totale < 20 %). Seule la surface en avoine semblait associée à l'incidence des tumeurs du SNC chez l'enfant (RR = 1,1 ; IC 95 % [1,0-1,3]).

L'étude écologique conduite par Booth et coll. dans 6 États des États-Unis, quant à elle, ne montrait pas d'association entre l'incidence des tumeurs du SNC chez les enfants de moins de 5 ans (315 cas) et la surface en culture dans les comtés, aussi bien globalement (RRQ4 *versus* Q1 = 1,27 ; IC 95 % [0,83-1,94]) que par type de cultures (Booth et coll., 2015). De même, dans l'étude cas-témoins de Walker et coll., 2007, réalisée au Texas (752 cas, 3 487 témoins), le fait de résider au moment de la naissance dans un comté agricole (SAU > 50 % de la superficie totale) ne semblait pas associé au risque de développer une tumeur du SNC avant 15 ans (OR = 1,3 ; IC 95 % [0,9-1,8]). Ces résultats concordent avec ceux d'une étude de cohorte de naissance, menée également au Texas à l'échelle des comtés (Thompson et coll., 2008) et ceux d'une étude danoise s'intéressant à la présence de cultures dans des zones tampons centrées sur les adresses géolocalisées des mères pendant la grossesse (Patel et coll., 2020b). Dans cette dernière étude, les quantités de 9 herbicides et un fongicide utilisés à proximité des domiciles n'étaient pas non plus associées au risque de tumeur du SNC chez l'enfant. Seule une association avec la présence de bétail dans les 500 m était rapportée. Comme pour les LA, l'étude conduite en Espagne par Gomez-Barroso et coll., 2016, reprise de façon plus détaillée par Ramis et coll., 2017, montrait une association positive entre la part de surface en culture à proximité des lieux de résidence et le risque de tumeurs du SNC chez les enfants, globalement et pour tous les sous-types de tumeurs du SNC. Rappelons que dans cette étude l'adresse considérée est celle au moment du diagnostic pour les cas, à la naissance pour les témoins. Les résultats étaient toutefois inchangés lorsque les auteurs n'incluaient que les cas n'ayant jamais déménagé (Ramis et coll., 2017). Des associations positives avec plusieurs types de cultures (terres irriguées, oliviers, vergers, autres cultures) étaient également rapportées.

Deux études californiennes basées sur les informations des registres d'utilisation de pesticides ne montraient aucune association entre le risque de tumeurs du SNC chez l'enfant et l'utilisation de pesticides à proximité du lieu de résidence à la naissance (Reynolds et coll., 2005a) ou au diagnostic (Reynolds et coll., 2002). Dans ces études, 4 groupes toxicologiques, 4 classes chimiques et 7 substances actives particulières étaient considérés.

Conclusion des études récentes

Les études récentes sur le lien entre l'exposition aux pesticides et le risque de tumeurs du SNC chez l'enfant ont porté principalement sur l'exposition domestique aux pesticides (insecticides et herbicides) pendant la grossesse

et l'enfance. Des associations positives ont été rapportées de façon consistante, comme le montrent les résultats de la méta-analyse de Van Maele-Fabry et coll. et ceux de l'étude française publiés par Vidart d'Egurbide Bagazgoitia et coll. Ces résultats concernent les tumeurs du SNC dans leur ensemble, les études ne permettant pas d'établir des conclusions pour les différents sous-types.

Comme pour les leucémies, il est difficile de conclure sur le lien entre la proximité de cultures et l'incidence des tumeurs du SNC chez l'enfant.

Autres cancers de l'enfant

À l'heure actuelle, un nombre limité d'études se sont intéressées au lien entre l'exposition aux pesticides et le risque des cancers de l'enfant autres que les LA et les tumeurs du SNC. Parmi les études les plus récentes, figurent principalement les études écologiques évoquées précédemment (Walker et coll., 2007 ; Carozza et coll., 2008 ; Thompson et coll., 2008 ; Carozza et coll., 2009 ; Booth et coll., 2015 ; Gomez-Barroso et coll., 2016). Dans l'ensemble, ces études ne mettent pas en évidence de lien entre la présence de cultures à proximité du lieu de résidence et le risque de ces cancers chez l'enfant.

Les expositions professionnelles parentales et les expositions domestiques aux pesticides ont été étudiées dans quelques études que nous présentons brièvement ci-dessous. Des associations sont parfois suggérées, mais du fait de la rareté de ces cancers et donc des effectifs limités, d'autres travaux sont nécessaires pour pouvoir conclure sur le rôle de l'exposition aux pesticides.

Lymphomes

Une revue de littérature publiée en 1998 (Zahm et Ward, 1998), et sa mise à jour en 2007 (Infante-Rivard et Weichenthal, 2007), suggéraient une association positive entre l'exposition aux pesticides et le risque de lymphomes non hodgkiniens chez l'enfant. Ces résultats, souvent basés sur de petits effectifs, concernaient principalement l'exposition domestique avec toutefois des mesures d'exposition différentes selon les études (utilisation d'insecticides par la mère, traitements au domicile par des professionnels, résidence dans une ferme). Une association avec l'exposition professionnelle de la mère aux pesticides était également évoquée (Infante-Rivard et Weichenthal, 2007).

La méta-analyse récente de Chen et coll. montrait également une augmen-

 tation du risque de lymphomes en cas d'exposition domestique aux pesticides

pendant l'enfance (méta OR = 1,43 ; IC 95 % [1,15-1,78]) (Chen et coll., 2015). Notons que ce résultat, du même ordre de grandeur que celui rapporté pour les leucémies aiguës, était basé sur 3 études dont 2 étaient incluses dans la revue d'Infante-Rivard et Weichenthal. La troisième étude, menée en France, contribuait très majoritairement à la méta-analyse avec deux résultats distincts, l'un pour les lymphomes de Hodgkin et l'utilisation domestique de pesticides par la mère, l'autre pour les lymphomes non hodgkiniens et l'utilisation domestique de pesticides par la mère ou le père (Rudant et coll., 2007). Les enfants étaient considérés comme exposés dans cette étude si des pesticides avaient été utilisés par la mère au moins une fois pendant la grossesse ou par le père au moins une fois pendant ou après la grossesse.

Dans une étude britannique récente, qui incluait environ 5 000 cas et 5 000 témoins, l'exposition professionnelle du père aux produits agrochimiques n'était pas associée au risque de lymphomes, globalement et pour les principaux types de lymphomes (Bunch et coll., 2019). L'exposition était déterminée à partir des intitulés des emplois renseignés dans les registres de naissances et l'application d'une matrice emploi-exposition. Plus de 30 expositions professionnelles étaient considérées.

Plusieurs études suggèrent une association entre l'exposition domestique aux pesticides et le risque de lymphomes non hodgkiniens chez l'enfant, les effectifs étant toutefois assez limités. En conséquence, la présomption de lien est faible.

Neuroblastomes

En 2011, une méta-analyse a été publiée sur le rôle de l'exposition professionnelle paternelle aux pesticides dans la survenue de neuroblastomes chez l'enfant (Moore et Enquobahrie, 2011). Sept études cas-témoins et deux études de cohorte ont été incluses, et dans l'ensemble, aucune association n'a été mise en évidence (méta RR = 1,07 ; IC 95 % [0,79-1,45]). Le rôle des expositions professionnelles maternelles a été peu étudié.

Une étude cas-témoins incluant 538 cas de neuroblastomes diagnostiqués dans 139 hôpitaux aux États-Unis et Canada sur la période 1992-1994 (390 cas dans les analyses sur les pesticides) suggérait des associations positives avec l'utilisation domestique de pesticides à l'intérieur des habitations et dans les jardins (Daniels et coll., 2001). Les associations étaient observées pour les neuroblastomes âgés de plus d'un an et lorsque les deux parents avaient déclaré avoir utilisé des pesticides sur une période allant d'un mois avant la conception jusqu'au diagnostic. De même, une étude récente (Rios

et coll., 2017) incluant les cas de neuroblastomes diagnostiqués en France sur 4 années (357 cas) et 1 783 témoins de population générale a mis en évidence une augmentation du risque de ces cancers lors d'une utilisation de pesticides par la mère au moins une fois pendant la grossesse (OR = 1,5 ; IC 95 % [1,2-1,9]). Les auteurs rapportaient également une association positive avec l'exposition professionnelle aux pesticides pendant la grossesse (OR = 2,0 ; IC 95 % [1,0-4,0]), la prévalence de l'exposition étant toutefois très faible (3,6 % pour les cas, 1,6 % pour les témoins).

Rétinoblastomes

Une étude cas-témoins menée dans 9 centres de traitements aux États-Unis et au Canada sur la période 1998-2006 (Abdolahi et coll., 2013) s'est intéressée à l'exposition professionnelle du père avant la conception et le risque de rétinoblastome bilatéral sporadique chez l'enfant (135 cas et 245 témoins inclus dans les analyses). Des informations sur les emplois occupés, pendant 6 mois ou plus, dans les 10 années qui précèdent la conception, ont été recueillies par interview. Des scores d'exposition à plusieurs facteurs ont ensuite été estimés par des hygiénistes en fonction de la probabilité d'exposition, de la fréquence et de l'intensité. Une association positive avec l'exposition professionnelle du père aux pesticides était suggérée (pour les scores intermédiaires et plus élevés) en considérant les emplois occupés dans les 10 années (OR = 1,4 ; IC 95 % [0,9-2,3]) ou l'année (OR = 1,7 ; IC 95 % [0,9-3,3]) précédant la conception de l'enfant.

Dans une autre étude, basée sur 155 cas de rétinoblastomes et autant de témoins (Omidakhsh et coll., 2017), l'utilisation domestique de pesticides dans le mois précédant et pendant la grossesse semblait associée au risque de rétinoblastome de forme unilatérale (OR = 2,8 ; IC 95 % [1,1-6,7]). Dans cette étude, l'exposition domestique comprenait l'utilisation de pesticides par les parents en intérieur ou extérieur, l'application de traitements par des professionnels, l'utilisation de produits anti-poux sur les cheveux d'enfants, ou pour les animaux domestiques, l'utilisation de colliers ou shampooings contre les puces ou les tiques.

Conclusion

L'expertise collective Inserm de 2013 avait conclu à la présomption forte d'un lien entre le risque de LA chez l'enfant et l'exposition professionnelle et domestique aux pesticides de la mère pendant la grossesse, d'une part, l'exposition

domestique de l'enfant d'autre part. Les études récentes confirment ces résultats, l'augmentation du risque lié à l'exposition professionnelle maternelle semblant spécifique des LAM. Une augmentation du risque de LAL est également suggérée en cas d'exposition professionnelle paternelle aux pesticides en période préconceptionnelle (niveau de présomption moyen, tableau 9.I).

Le rôle de l'exposition professionnelle du père et de la mère aux pesticides dans la survenue des tumeurs du SNC chez l'enfant avait également été avancé avec une présomption forte dans l'expertise collective Inserm de 2013 (tableau 9.II). Une actualisation de ces connaissances ne semble pas pertinente, les études publiées depuis cette expertise étant très peu nombreuses et peu informatives. En effet, les études plus récentes portaient principalement sur l'exposition domestique aux pesticides. De manière consistante, une augmentation du risque de tumeurs du SNC chez l'enfant a été rapportée. Ces résultats concernent les tumeurs du SNC dans leur ensemble, les études ne permettant pas d'établir des conclusions fermes pour les différents sous-types.

Par ailleurs, sur la base des résultats de plusieurs études de petite taille, la présomption d'un lien entre l'exposition domestique aux pesticides et le risque de lymphomes non hodgkiniens chez l'enfant est faible (tableau 9.I).

Des associations positives avec l'exposition aux pesticides sont suggérées pour d'autres types de cancers de l'enfant (tumeurs embryonnaires, en particulier), mais l'état actuel des connaissances épidémiologiques ne permet pas de conclure de manière définitive.

Tableau 9.I : Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et les hémopathies malignes de l'enfant

Exposition	Effets	Présomption d'un lien
Exposition professionnelle maternelle aux pesticides (sans distinction) pendant la grossesse	Leucémies (LAM)	++ [a]
Exposition professionnelle paternelle aux pesticides (sans distinction) préconceptionnelle	Leucémies (LAL)	+
Exposition domestique (usages domestiques) aux pesticides (sans distinction) pendant la grossesse ou chez l'enfant	Leucémies (LAL et LAM)	++ [b]
Exposition domestique aux pesticides (sans distinction) pendant la grossesse ou chez l'enfant	Lymphomes non hodgkiniens	±

++ [a] d'après les résultats de deux méta-analyses en 2013 et d'une méta-analyse supplémentaire (Wigle et coll., 2009 ; Van Maele-Fabry et coll., 2010 ; Bailey et coll., 2014) ; renforce les résultats de 2013
+ d'après une méta-analyse (avec hétérogénéité entre les résultats des études) et une étude cas-témoins (Bailey et coll., 2014 ; Gunier et coll., 2017) Données nouvelles
++ [b] d'après les résultats de deux méta-analyses en 2013, et de trois méta-analyses supplémentaires (Turner et coll., 2010 ; Van Maele-Fabry et coll., 2011 ; Bailey et coll., 2015 ; Chen et coll., 2015 ; Van Maele-Fabry et coll., 2019) ; renforce les résultats de 2013
± d'après les résultats d'une méta-analyse de trois études (Chen et coll., 2015) et les résultats de plusieurs études de petite taille (revues dans Infante-Rivard et Weichenthal, 2007) Données nouvelles

Tableau 9.II : Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et tumeurs du système nerveux central de l'enfant

Exposition	Effets	Présomption d'un lien
Exposition professionnelle des parents aux pesticides (sans distinction) pendant la période prénatale	Tumeurs du système nerveux central	++ [a]
Exposition domestique (usages domestiques) aux pesticides (sans distinction) pendant la grossesse ou chez l'enfant	Tumeurs du système nerveux central	++ [b]

++ [a] d'après les résultats d'une méta-analyse (Van Maele-Fabry et coll., 2013) ; pas de nouvelles données informatives depuis l'expertise collective de 2013
++ [b] d'après les résultats de deux méta-analyses récentes (Chen et coll., 2015 ; Van Maele-Fabry et coll., 2017) Données nouvelles

Références

Abdolahi A, van Wijngaarden E, McClean MD, *et al.* A case-control study of paternal occupational exposures and the risk of childhood sporadic bilateral retinoblastoma. *Occup Environ Med* 2013 ; 70 : 372-9.

Bailey HD, Infante-Rivard C, Metayer C, *et al.* Home pesticide exposures and risk of childhood leukemia: Findings from the childhood leukemia international consortium. *Int J Cancer* 2015 ; 137 : 2644-63.

Bailey HD, Fritschi L, Infante-Rivard C, *et al.* Parental occupational pesticide exposure and the risk of childhood leukemia in the offspring: findings from the childhood leukemia international consortium. *Int J Cancer* 2014 ; 135 : 2157-72.

Booth BJ, Ward MH, Turyk ME, *et al.* Agricultural crop density and risk of childhood cancer in the midwestern United States: an ecologic study. *Environ Health* 2015 ; 14 : 82.

Bunch KJ, Kendall GM, Stiller CA, *et al.* Case-control study of paternal occupational exposures and childhood lymphoma in Great Britain, 1962-2010. *Br J Cancer* 2019 ;120 : 1153-61.

Carozza SE, Li B, Wang Q, *et al.* Agricultural pesticides and risk of childhood cancers. *Int J Hyg Environ Health* 2009 ; 212 : 186-95.

Carozza SE, Li B, Elgethun K, *et al.* Risk of childhood cancers associated with residence in agriculturally intense areas in the United States. *Environ Health Perspect* 2008 ; 116 : 559-65.

Chen M, Chang C-H, Tao L, *et al.* Residential exposure to pesticide during childhood and childhood cancers: a meta-analysis. *Pediatrics* 2015 ; 136 : 719-29.

Coste A, Goujon S, Faure L, *et al.* Agricultural crop density in the municipalities of France and incidence of childhood leukemia: An ecological study. *Environ Res* 2020a ; 187 : 109517.

Coste A, Bailey HD, Kartal-Kaess M, *et al.* Parental occupational exposure to pesticides and risk of childhood cancer in Switzerland: a census-based cohort study. *BMC Cancer* 2020b ; 20 : 819.

Daniels JL, Olshan AF, Teschke K, *et al*. Residential pesticide exposure and neuroblastoma. *Epidemiology* 2001 ; 12 : 20-7.

Febvey O, Schuz J, Bailey HD, *et al*. Risk of central nervous system tumors in children related to parental occupational pesticide exposures in three European case-control studies. *J Occup Environ Med* 2016 ; 58 : 1046-52.

Gatta G, Botta L, Rossi S, *et al*. Childhood cancer survival in Europe 1999-2007: results of EUROCARE-5-a population-based study. *Lancet Oncol* 2014 ; 15 : 35-47.

Gomez-Barroso D, Garcia-Perez J, Lopez-Abente G, *et al*. Agricultural crop exposure and risk of childhood cancer : new findings from a case-control study in Spain. *Int J Health Geogr* 2016 ; 15 : 18.

Goujon S, Kyrimi E, Faure L, *et al*. Spatial and temporal variations of childhood cancers: Literature review and contribution of the French national registry. *Cancer Med* 2018 ; 7 : 5299-314.

Gunier RB, Kang A, Hammond SK, *et al*. A task-based assessment of parental occupational exposure to pesticides and childhood acute lymphoblastic leukemia. *Environ Res* 2017 ; 156 : 57-62.

Infante-Rivard C, Weichenthal S. Pesticides and childhood cancer: an update of Zahm and Ward's 1998 review. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2007 ; 10 : 81-99.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1 001 p.

Malagoli C, Costanzini S, Heck JE, *et al*. Passive exposure to agricultural pesticides and risk of childhood leukemia in an Italian community. *Int J Hyg Environ Health* 2016 ; 219 : 742-8.

Metayer C, Colt JS, Buffler PA, *et al*. Exposure to herbicides in house dust and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2013 ; 23 : 363-70.

Moore A, Enquobahrie DA. Paternal occupational exposure to pesticides and risk of neuroblastoma among children : a meta-analysis. *Cancer Causes Control* 2011 ; 22 : 1529-36.

Omidakhsh N, Ganguly A, Bunin GR, *et al*. Residential pesticide exposures in pregnancy and the risk of sporadic retinoblastoma : A report from the Children's Oncology Group. *Am J Ophthalmol* 2017 ; 176 : 166-73.

Park AS, Ritz B, Yu F, *et al*. Prenatal pesticide exposure and childhood leukemia – A California statewide case-control study. *Int J Hyg Environ Health* 2020 ; 226 : 113486.

Patel DM, Jones RR, Booth BJ, *et al*. Parental occupational exposure to pesticides, animals and organic dust and risk of childhood leukemia and central nervous system tumors: Findings from the International Childhood Cancer Cohort Consortium (I4C). *Int J Cancer* 2020a ; 146 : 943-52.

Patel DM, Gyldenkærne S, Jones RR, *et al*. Residential proximity to agriculture and risk of childhood leukemia and central nervous system tumors in the Danish national birth cohort. *Environ Int* 2020b ; 143 : 105955.

Ramis R, Tamayo-Uria I, Gómez-Barroso D, *et al.* Risk factors for central nervous system tumors in children: New findings from a case-control study. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0171881.

Reynolds P, Behren J von, Gunier RB, *et al.* Agricultural pesticide use and childhood cancer in California. *Epidemiology* 2005a ; 16 : 93-100.

Reynolds P, Behren J von, Gunier R, *et al.* Agricultural pesticides and lymphoproliferative childhood cancer in California. *Scand J Work Environ Health* 2005b ; 31 Suppl 1 : 46-54 ; discussion 5-7.

Reynolds P, Behren J von, Gunier RB, *et al.* Childhood cancer and agricultural pesticide use: an ecologic study in California. *Environ Health Perspect* 2002 ; 110 : 319-24.

Rios P, Bailey HD, Lacour B, *et al.* Maternal use of household pesticides during pregnancy and risk of neuroblastoma in offspring. A pooled analysis of the ESTELLE and ESCALE French studies (SFCE). *Cancer Causes Control* 2017 ; 28 : 1125-32.

Rudant J, Menegaux F, Leverger G, *et al.* Household exposure to pesticides and risk of childhood hematopoietic malignancies : The ESCALE study (SFCE). *Environ Health Perspect* 2007 ; 115 : 1787-93.

Rull RP, Gunier R, Behren J von, *et al.* Residential proximity to agricultural pesticide applications and childhood acute lymphoblastic leukemia. *Environ Res* 2009 ; 109 : 891-9.

Steliarova-Foucher E, Colombet M, Ries LAG, *et al.* International incidence of childhood cancer, 2001-10: a population-based registry study. *Lancet Oncol* 2017 ; 18 : 719-31.

Thompson JA, Carozza SE, Zhu L. Geographic risk modeling of childhood cancer relative to county-level crops, hazardous air pollutants and population density characteristics in Texas. *Environ Health* 2008 ; 7 : 45.

Turner MC, Wigle DT, Krewski D. Residential pesticides and childhood leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect* 2010 ; 118 : 33-41.

Van Maele-Fabry G, Gamet-Payrastre L, Lison D. Household exposure to pesticides and risk of leukemia in children and adolescents: Updated systematic review and meta-analysis. *Int J Hyg Environ Health* 2019 ; 222 : 49-67.

Van Maele-Fabry G, Gamet-Payrastre L, Lison D. Residential exposure to pesticides as risk factor for childhood and young adult brain tumors: A systematic review and meta-analysis. *Environ Int* 2017 ; 106 : 69-90.

Van Maele-Fabry G, Hoet P, Lison D. Parental occupational exposure to pesticides as risk factor for brain tumors in children and young adults: a systematic review and meta-analysis. *Environ Int* 2013 ; 56 : 19-31.

Van Maele-Fabry G, Lantin A-C, Hoet P, *et al.* Residential exposure to pesticides and childhood leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Environ Int* 2011 ; 37 : 280-91.

Van Maele-Fabry G, Lantin A-C, Hoet P, *et al*. Childhood leukaemia and parental occupational exposure to pesticides: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Causes Control* 2010 ; 21 : 787-809.

Vidart d'Egurbide Bagazgoitia N, Bailey HD, Orsi L, *et al*. Maternal residential pesticide use during pregnancy and risk of malignant childhood brain tumors : A pooled analysis of the ESCALE and ESTELLE studies (SFCE). *Int J Cancer* 2018 ; 142 : 489-97.

Walker KM, Carozza S, Cooper S, *et al*. Childhood cancer in Texas counties with moderate to intense agricultural activity. *J Agric Saf Health* 2007 ; 13 : 9-24.

Wigle DT, Turner MC, Krewski D. A systematic review and meta-analysis of childhood leukemia and parental occupational pesticide exposure. *Environ Health Perspect* 2009 ; 117 : 1505-13.

Zahm SH, Ward MH. Pesticides and childhood cancer. *Environ Health Perspect* 1998 ; 106 : 893-908.

10
Tumeurs du système nerveux central

Les tumeurs primitives du système nerveux central (SNC)[24] regroupent des entités diverses qui se développent à partir de cellules spécialisées. On distingue de nombreux types histologiques qui sont classés selon leur origine en plusieurs groupes ; principalement les tumeurs neuroépithéliales (représentées en majorité par les gliomes), les tumeurs des méninges (méningiomes), les tumeurs des nerfs crâniens (neurinomes) et les lymphomes primitifs du SNC. Les tumeurs neuroépithéliales représentent près de la moitié des tumeurs du SNC. Elles ont pour origine, soit les neurones, soit les cellules gliales entourant les neurones. Les tumeurs du SNC sont rares ; les formes malignes représentent 1,5 % de toutes les formes de cancer en France, mais elles constituent un problème de santé important en raison de leurs taux de morbidité et de mortalité élevés.

Les dernières estimations réalisées par le réseau FRANCIM portent à 3 280 nouveaux cas annuels le nombre des tumeurs malignes du SNC chez l'homme et à 2 606 nouveaux cas chez la femme en France (Defossez et coll., 2019), soit un taux d'incidence d'environ 11 cas pour 100 000 habitants par an. À ce nombre, comme le préconisent les recommandations internationales, il faut ajouter celui des tumeurs dites bénignes (et en particulier les méningiomes), qui sont en nombre presque équivalent et dont le pronostic peut également être défavorable. Le registre des tumeurs du SNC de Gironde estime que l'incidence des tumeurs bénignes et malignes dépasse 20 pour 100 000 habitants par an. Ce même registre a observé sur la période 2000 à 2012 une augmentation de l'incidence des tumeurs du SNC de l'ordre de 2,7 % par an (Pouchieu et coll., 2018a).

En dehors des radiations ionisantes et de certains syndromes génétiques particuliers, les tumeurs du SNC, quel que soit le type histologique (gliomes,

24. Le chapitre correspondant dans l'expertise collective Inserm de 2013 était intitulé « Tumeurs cérébrales ». Le changement de dénomination vise à inclure également les tumeurs de la moelle épinière qui comptent pour environ 10 % des tumeurs du système nerveux central.

méningiomes, neurinomes, lymphomes...) ne disposent à ce jour d'aucun facteur étiologique reconnu (Bondy et coll., 2008). Plusieurs éléments pointent une prédisposition génétique : le fait d'avoir un membre de famille proche atteint d'une tumeur du SNC augmente le risque et elles sont associées avec certaines maladies rares (la neurofibromatose, la sclérose tubéreuse...).

Résumé et conclusions de l'expertise collective Inserm de 2013

Lors de la précédente expertise collective sur ce sujet (Inserm, 2013), le nombre d'études existantes portant sur le lien entre tumeurs cérébrales et pesticides était relativement limité, environ une vingtaine si on ne prend pas en compte les cohortes historiques et les études cas-témoins professionnelles générales qui n'explorent que très imparfaitement l'exposition aux pesticides ou portent sur un nombre de cas très faible.

À partir de ces données, l'expertise collective a conclu à une présomption faible d'un lien entre l'exposition aux pesticides dans les populations agricoles et les tumeurs cérébrales (gliomes et méningiomes) mais n'avait pas pu conclure sur des matières actives précises. Seule une élévation significative du risque de tumeurs cérébrales était rapportée dans la cohorte *Agricultural Health Survey* (AHS) aux États-Unis chez les personnes les plus exposées au chlorpyrifos.

Depuis, douze études nouvelles ont été réalisées dont une méta-analyse, sept études de cohortes et quatre études cas-témoins (tableau 10.I, voir en fin de ce chapitre).

Nouvelles données épidémiologiques

Méta-analyses

Dans la précédente expertise collective, deux méta-analyses sur le risque de cancer chez les agriculteurs, incluant respectivement 18 et 28 études publiées entre 1963 et 1994, concluaient à une augmentation du risque de tumeurs cérébrales d'environ 5 % (Blair et coll., 1992 ; Acquavella et coll., 1998). Une troisième méta-analyse portant spécifiquement sur les tumeurs cérébrales en milieu agricole, et incluant 33 études publiées entre 1981 et 1996, mettait en évidence une élévation du risque (méta RR = 1,3 ; IC 95 %

[1,09-1,56]) (Khuder et coll., 1998). Depuis, une quatrième méta-analyse a été publiée sous le format d'une lettre (Li et coll., 2015a). Alors que les précédentes méta-analyses portaient de manière large sur les tumeurs cérébrales en milieu agricole, sans distinction du type de tumeur ou du schéma d'étude et sans prise en compte de l'exposition aux pesticides, cette nouvelle méta-analyse était centrée sur 11 études cas-témoins ayant estimé le risque de gliomes chez les adultes en lien avec l'exposition aux pesticides. À partir de 6 393 cas et 15 258 témoins inclus dans ces études, elle conclut à une élévation de risque de 15 % non significative pour l'exposition aux pesticides, et souligne le faible nombre d'études et l'hétérogénéité existant entre elles. La brièveté de cet article ne permet pas une description détaillée de la méthode ni une discussion précise des limites. Surtout, cette analyse est restreinte à un sous-ensemble d'études ciblées sur un type de tumeur et un schéma d'étude.

Études de cohortes

Un certain nombre de cohortes historiques apportant des informations sur les tumeurs cérébrales avaient été précédemment identifiées, ainsi que deux cohortes prospectives (AHS et AGRICAN). Les cohortes historiques analysant la mortalité de professionnels exposés (applicateurs de pesticides en agriculture ou dans d'autres secteurs) obtenaient des résultats discordants : certaines montraient des excès de risque (Figà-Talamanca et coll., 1993 ; Kross et coll., 1996 ; Navas-Acién et coll., 2002), d'autres non (Bond et coll., 1988 ; Morrison et coll., 1992 ; Burns et coll., 2011). Du fait des petits nombres de cas exposés, l'AHS n'avait pu analyser le lien qu'avec trois pesticides : elle ne trouvait pas d'association avec l'alachlore et l'atrazine (Lee et coll., 2004a) mais observait une élévation du risque de tumeur cérébrale avec le chlorpyrifos sur la période 1993-2001 (RR = 1,77 ; IC 95 % [0,70-4,50]). Celle-ci était significative pour les applicateurs ayant le niveau d'exposition le plus élevé, évalué par un score cumulé prenant en compte les tâches réalisées (RR = 4,0 ; IC 95 % [1,2-13,8]) (Lee et coll., 2004b).

Depuis, le métolachlore et l'alachlore ont été réétudiés dans l'AHS en lien avec les tumeurs cérébrales chez les applicateurs, sans montrer d'association positive claire (Silver et coll., 2015 ; Lerro et coll., 2018). Le suivi de l'incidence des cancers dans la cohorte jusqu'en 2012-2013 a permis par ailleurs d'analyser le risque pour les conjointes des applicateurs (n = 28 909) en lien avec leurs utilisations personnelles d'organochlorés, estimées par une question portant sur l'usage professionnel ou domestique de sept pesticides

organochlorés, sur l'ensemble de leur vie. Alors qu'il n'était pas mis en évidence de lien avec la plupart des cancers, une élévation du risque de gliomes (n = 44 dont 11 cas exposés) était observée chez les utilisatrices d'organochlorés (RR = 3,52 ; IC 95 % [1,72-7,21]), plus marquée chez celles qui déclaraient avoir appliqué du lindane (RR = 4,45 ; IC 95 % [1,36-14,55]), et présente également chez les utilisatrices de chlordane bien que non significative (RR = 1,81 ; IC 95 % [0,64-5,12]) (Louis et coll., 2017). Une autre analyse menée chez les conjointes d'applicateurs en lien avec les usages d'organophosphorés ne mettait en évidence qu'une légère augmentation du risque non statistiquement significative en considérant globalement le groupe des organophosphorés (RR = 1,29 ; IC 95 % [0,53-3,12]) ou en étudiant séparément le malathion (RR = 1,57 ; IC 95 % [0,65-3,78] ; n = 38 cas) (Lerro et coll., 2015).

En France, la cohorte AGRICAN, qui inclut environ 180 000 personnes affiliées à la Mutualité sociale agricole (MSA) dans des départements français disposant de registres de cancer, a également permis d'analyser le risque de tumeurs du SNC en lien avec les expositions agricoles (Piel et coll., 2017). Entre l'inclusion et la fin de l'année 2011, 273 cas de tumeurs du SNC ont été observés parmi les participants dont 126 gliomes et 87 méningiomes. Les analyses ont porté sur les expositions à des cultures (prairie, vignes, blé/orge, maïs, pois, betteraves, tournesol, colza, tabac, pommes de terre, arbres fruitiers) et à des élevages (bovins, ovins, porcs, volailles, chevaux), et sur les tâches réalisées – incluant l'usage de pesticides. Deux populations de référence ont été prises en compte : celle des personnes n'ayant pas travaillé sur la culture ou l'élevage considéré – même si elles avaient travaillé sur une exploitation –, et celle des personnes affiliées à la MSA n'ayant pas travaillé sur une exploitation (14 % de la population d'étude travaillant dans des secteurs connexes : sylviculture, apiculture, espaces verts, agroalimentaire, distribution, coopératives, caisses de crédit et d'assurance...). Les analyses ont pris en compte des facteurs de confusion potentiels (âge, sexe, histoire tabagique). Toutes tumeurs du SNC confondues, les personnes ayant travaillé dans au moins une culture ou un élevage avaient un risque élevé et significatif de tumeur (HR = 1,73 ; IC 95 % [1,01-2,94]). Pour les gliomes le risque était augmenté (HR = 1,55 ; IC 95 % [0,79-3,03]) ainsi que pour les méningiomes (HR = 1,54 ; IC 95 % [0,59-3,97)], mais ces résultats par type de tumeurs n'étaient pas statistiquement significatifs. Les risques étaient plus élevés, de manière statistiquement significative, pour les personnes ayant travaillé dans certaines cultures : le pois fourrager (HR = 2,48 ; IC 95 % [1,45-4,26]), les betteraves (HR = 2,07 ; IC 95 % [1,39-3,07]) et les pommes de terre (HR = 1,64 ; IC 95 % [1,13-2,39]) ainsi que pour les personnes ayant appliqué des pesticides (HR = 1,96 ; IC 95 % [1,11-3,47]).

Deux autres études menées dans AGRICAN ont porté spécifiquement sur le lien entre les tumeurs cérébrales survenues dans les sept premières années de suivi de la cohorte (n = 381) et les pesticides de la famille des carbamates, qui comporte à la fois des insecticides, des herbicides (dont des thiocarbamates) et des fongicides (dont des dithiocarbamates). L'étude portant sur les insecticides carbamates montrait une élévation du risque de tumeurs du SNC (HR = 1,47 ; IC 95 % [1,03-2,10]) retrouvée pour l'ensemble des 19 molécules de ce groupe d'autant plus marquée que la durée d'exposition était importante (Piel et coll., 2019b). Le niveau de risque variait avec les molécules et le type de tumeur. Ainsi le risque de gliome était particulièrement augmenté chez les personnes exposées au formétanate (HR = 4,60 ; IC 95 % [1,67-12,7]), au dioxacarbe et/ou au promécarbe (HR = 3,0 ; IC 95 % [1,46-6,17]), à l'isolane (HR = 2,40 ; IC 95 % [1,12-5,12]), au fénoxycarb (HR = 2,10 ; IC 95 % [1,04-4,24), au méthiocarbe et/ou thiodicarbe (HR = 1,78 ; IC 95 % [1,03-3,08]). Certains insecticides carbamates étaient par ailleurs associés à des triplements de risque de méningiome : le thiofanox (HR = 3,67 ; IC 95 % [1,16-11,56]), l'isolane (HR = 3,59 ; IC 95 % [1,38-9,34]), le dioxacarbe et/ou le promécarbe (HR = 3,43 ; IC 95 % [1,44-8,19]).

Une deuxième étude portait sur les herbicides carbamates ou thiocarbamates et les fongicides carbamates ou dithiocarbamates (Piel et coll., 2019a). Elle montrait une élévation du risque de tumeurs du SNC chez les personnes exposées à ces molécules pour les fongicides (HR = 1,88 ; IC 95 % [1,27-2,79]) et pour les herbicides (HR = 1,44 ; IC 95 % [0,94-2,22]). Cette élévation de risque a été observée pour toutes les substances et était plus importante pour des expositions plus longues pour les fongicides (p de tendance < 0,01). Le risque de gliome était significativement plus élevé chez les personnes exposées aux herbicides chlorprophame et/ou prophame (HR = 2,28 ; IC 95 % [1,06-4,91]), surtout utilisés en association pour la conservation des tubercules de pommes de terre, au fongicide propamocarbe (HR = 2,94 ; IC 95 % [1,09-7,90]), et des doublements de risque significatifs étaient observés pour la plupart des dithiocarbamates : cuprobame, cuprèbe, ferbame, mancozèbe, manèbe, métirame, propinèbe, thirame, zirame, et zinèbe. Lorsque des molécules étaient très corrélées entre elles (r > 0,80), les matières actives n'ont pas été analysées séparément car on ne pouvait distinguer leurs effets. C'est le cas par exemple du prophame et du chlorprophame, ou encore de certains fongicides dithiocarbamates à large spectre (mancozèbe, manèbe et métirame) ou utilisés pour des traitements en viticulture ou arboriculture (cuprèbe, ferbame, propinèbe, zinèbe et/ou zirame). Le risque de méningiome était significativement augmenté chez les personnes exposées aux herbicides diallate (HR = 3,65 ; IC 95 % [1,24-10,71]), chlorprophame et/ou prophame

(HR = 2,64 ; IC 95 % [1,02-6,81]) ainsi qu'avec le cuprobame (HR = 3,22 ; IC 95 % [1,42-7,28]). Les différentes analyses de sensibilité (inclusion de tous les participants non exposés à la matière active étudiée dans les groupes de référence, prise en compte des éventuelles expositions indirectes – tâches de réentrée –, exclusion des participants aux parcours non agricoles...) n'impactaient que modérément les résultats des analyses principales.

En résumé, les études de cohortes sur les familles ou les substances actives de pesticides apportent des données nouvelles. La cohorte américaine montre des excès de risques significatifs pour les organochlorés et le lindane, mais seulement chez les femmes d'applicateurs de pesticides. La cohorte AGRICAN qui utilise pour la première fois la matrice emploi-exposition PESTIMAT pour caractériser l'exposition à des substances actives, a exploré les pesticides carbamates, sur la base d'arguments toxicologiques. Dans cette cohorte, des élévations de risque ont été mises en évidence pour de nombreuses molécules carbamates. L'interprétation des résultats doit être prudente, en raison des corrélations entre molécules, même si elles ont été prises en compte dans les analyses. Cependant, les associations avec certaines molécules atteignaient des doublements ou des triplements de risque, en particulier pour des molécules utilisées en viticulture, arboriculture, sur les pommes de terre et les betteraves, et les associations persistaient dans les analyses de sensibilité.

Études cas-témoins

Dès les années 1980, un certain nombre d'études cas-témoins basées sur des intitulés de professions avaient mis en évidence un lien entre tumeurs cérébrales et emplois en secteur agricole et/ou autres emplois exposant aux pesticides (secteur du bois, des forêts...) (Cordier et coll., 1988 ; Musicco et coll., 1988 ; Reif et coll., 1989 ; Brownson et coll., 1990 ; Demers et coll., 1991 ; Preston-Martin et coll., 1993 ; Rodvall et coll., 1996 ; Miranda-Filho et coll., 2012), même si certaines autres études n'avaient pas identifié de lien (Fincham et coll., 1992 ; Forastiere et coll., 1993).

À partir des années 2000, des études cas-témoins ont apprécié plus finement l'exposition aux pesticides à l'aide de questionnaires plus élaborés. C'était notamment le cas de trois études (deux menées aux États-Unis et une en France) (Lee et coll., 2005 ; Provost et coll., 2007 ; Samanic et coll., 2008) ainsi que des études de l'*Upper Midwest Health Study*. Cette dernière, menée dans l'Iowa, le Michigan, le Minnesota et le Wisconsin entre 1995 et 1997 ne mettait globalement pas en évidence d'élévation de risque de gliome en lien avec les expositions aux pesticides, à partir de l'analyse de 798 cas et de

1 175 témoins en population générale (Ruder et coll., 2004 ; Ruder et coll., 2006). Cependant, pour les herbicides de la famille des carbamates, il existait une tendance à une augmentation du risque chez les femmes (OR = 3,0 ; IC 95 % [0,9-9,5]), qui n'atteignait pas la significativité statistique, en raison du faible nombre de personnes exposées à cette famille de pesticides (Carreón et coll., 2005). Des analyses complémentaires, prenant en compte le calendrier des cultures, la résidence dans la ferme pendant l'enfance, les diverses tâches réalisées sur les cultures et les pratiques, confirmaient globalement l'absence d'association (Ruder et coll., 2009). Une élévation de risque statistiquement significative était néanmoins mise en évidence pour les personnes déclarant ne pas se laver après les traitements (OR = 3,08 ; IC 95 % [1,78-5,34]) ou ne pas changer de vêtements (OR = 2,84 ; IC 95 % [1,04-7,78]), ainsi que pour quelques cultures spécifiques. Des analyses complémentaires ont été menées par la suite afin d'intégrer la durée et l'intensité de l'exposition aux pesticides, en mettant en œuvre une expertise de l'exposition (Yiin et coll., 2012). Ces analyses sur 645 personnes ayant utilisé des pesticides agricoles (228 cas et 417 témoins) n'ont pas davantage montré d'association positive entre les gliomes et l'exposition aux pesticides. Des tendances à la diminution du risque étaient même observées en lien avec la durée d'exposition aux phénoxyherbicides ainsi qu'avec les usages professionnels non agricoles, les usages domestiques et le jardinage. Cette diminution de risque n'était observée que lorsque les questionnaires complétés par les proches étaient pris en compte, un effet qui pourrait s'expliquer par la difficulté des proches à rapporter de manière fiable les expositions.

Onze études cas-témoins avaient ainsi été identifiées lors de l'expertise collective publiée en 2013. Quatre nouvelles ont été identifiées depuis lors : une menée en France, deux en Italie et une en Inde (tableau 10.I, voir en fin de ce chapitre).

En France, l'étude CERENAT (Gironde, Manche, Calvados, Hérault) a inclus 596 cas et 1 192 témoins en population générale recrutés sur la période 2004-2006, et a analysé le risque de tumeur cérébrale en fonction de l'exposition résidentielle des participants. Après géocodage de l'ensemble des calendriers résidentiels, l'exposition a été estimée par la proximité des domiciles par rapport aux zones agricoles (grandes cultures, vignes, arboriculture), d'une part en utilisant les données de *CORINE Land Cover*, une base de données européenne sur l'occupation des sols, d'autre part en utilisant les données des recensements agricoles disponibles à l'échelle communale. Des tendances à une élévation du risque de méningiome ont été observées pour les personnes résidant dans des zones de grandes cultures, de vignes ou de vergers. Une élévation du risque statistiquement significative (OR = 2,3 ;

IC 95 % [1,04-5,10]) a été mise en évidence pour les scores les plus élevés d'exposition aux grandes cultures (75e percentile du score calculé à partir du recensement agricole) (Carles et coll., 2017).

En Italie, une étude cas-témoins a été réalisée à partir de 174 cas (méningiomes malins et tumeurs cérébrales malignes) opérés dans le service de neurochirurgie de Pise entre 1990 et 2000 et de 522 témoins identifiés dans le même service mais ne présentant pas de pathologie tumorale (Fallahi et coll., 2017). Leur histoire professionnelle a permis de les classer en agriculteurs et non-agriculteurs. Un doublement du risque a été observé chez les agriculteurs (OR = 2,2 ; IC 95 % [1,2-4,0]). Une autre étude cas-témoins a été menée en Italie dans la province de Vercelli par Salerno et coll. sur la période 2002-2009, consistant à comparer la fréquence d'agriculteurs chez des patients atteints de cancers incidents (identifiés par un registre hospitalier et les certificats de décès), à celle de témoins de même âge en population générale dans la même province (Salerno et coll., 2016). La profession agricole, déterminée par les registres de la sécurité sociale, servait de proxy pour classer les personnes comme exposées aux pesticides, dans un contexte où l'activité agricole était presque exclusivement de la riziculture. Dix-sept cas de tumeurs du SNC ont été pris en compte dans les analyses, et ont conduit à l'estimation d'un triplement de risque (OR = 2,93 ; p = 0,06).

L'étude indienne s'est déroulée dans la région de production fruitière du Cachemire entre 2005 et 2008 et a permis d'inclure 432 cas de tumeurs cérébrales primitives malignes opérées et 557 témoins (457 hospitaliers et 100 en population générale) (Bhat et coll., 2010). La baisse de l'acétylcholinestérase sérique a été utilisée comme marqueur d'exposition. Elle est un proxy des expositions aux organophosphorés et aux carbamates mais sur le court terme. Une plus grande proportion de cas que de témoins présentait des valeurs inférieures à la normale (les témoins étaient moins exposés par des activités agricoles que les cas). Les auteurs concluent à l'implication probable des pesticides dans la survenue des tumeurs, dont l'incidence semble augmenter dans la population de cette région.

Autres études

Lors de la précédente expertise collective, des travaux menés au Brésil avaient été identifiés. Dans l'État de Rio de Janeiro, une étude cas-témoins menée à partir des certificats de décès sur la période 1996-2005 mettait en évidence une élévation du risque de décès par tumeur cérébrale chez les hommes ayant exercé une profession agricole (OR = 1,82 ; IC 95 % [1,21-2,71]), ainsi que chez les personnes résidant dans les zones où

les plus fortes utilisations de pesticides étaient enregistrées (Miranda-Filho et coll., 2012). Dans le prolongement de cette analyse, l'équipe brésilienne a analysé la mortalité par tumeur cérébrale et son évolution dans la région fortement agricole de Serrana et l'a comparée à une zone urbaine (Miranda Filho et coll., 2014). La mortalité par tumeur cérébrale était plus élevée en zone agricole et augmentait sur la période 1996-2010, une tendance qui était inverse en zone urbaine. Les auteurs ne retiennent pas l'explication d'un meilleur accès aux moyens diagnostiques dans la zone urbaine (IRM, scanner), sur l'argument que le taux de mortalité à Serrana reste inférieur à celui de Rio de Janeiro, alors que celle-ci dispose de meilleurs équipements. À noter par ailleurs, la tendance était plus marquée pour les générations les plus jeunes, suggérant un lien avec des facteurs de risque apparus récemment.

En résumé, quatre nouvelles études cas-témoins ont été identifiées depuis la précédente expertise collective ; une en France, deux en Italie et une en Inde. Elles vont toutes les quatre dans le sens d'une élévation du risque en milieu agricole mais ne permettent pas de préciser la force de l'association ni de conclure sur les substances potentiellement en cause. Des résultats nouveaux ont également été produits par deux grandes cohortes prospectives ; l'AHS aux États-Unis et AGRICAN en France. La cohorte américaine a mis en évidence un lien entre la survenue de gliomes et l'exposition aux organochlorés chez les femmes, notamment avec le lindane. La cohorte française observe des excès de gliomes et de méningiomes chez les cultivateurs et les éleveurs, plus marqués pour certaines cultures et chez les utilisateurs de pesticides et des associations significatives avec des molécules carbamates insecticides, fongicides et herbicides.

Tumeurs du système nerveux central et pesticides – approches mécanistiques

Les études épidémiologiques décrites ci-dessus ont mis en évidence des associations entre l'exposition à certaines substances actives ou familles de pesticides et le risque de survenue de tumeurs du SNC. Nous présentons ci-dessous les connaissances expérimentales susceptibles d'apporter des arguments à la plausibilité biologique de l'association en nous focalisant sur le lindane, le chlorpyrifos (CPF), et les carbamates qui ont été identifiés par ces études.

Lindane

Le lindane est un pesticide organochloré qui cible le récepteur GABA-A et bloque l'effet de son ligand, le GABA (acide γ-aminobutyrique). Classé par le Circ comme un cancérogène avéré (groupe 1) en 2015 et interdit pour l'utilisation agricole en France depuis 1998, il a été très utilisé en agriculture mais aussi en usage domestique (punaises, poux, tiques...). Il possède des propriétés de perturbateur endocrinien, liées à sa capacité à stimuler la production de 16-hydroxycœstrone, un métabolite pro-œstrogénique et anti-androgénique associé au cancer du sein (Mrema et coll., 2013).

Dans le système glial, une seule étude rapporte son effet sur l'import d'uridine et d'acide α-aminoisobutyrique, qui est rapidement bloqué. Les auteurs mentionnent pour conséquence potentielle, une inhibition de la synthèse protéique et du transport des protéines (Roux et coll., 1980).

Chlorpyrifos

Le CPF est un pesticide organophosphoré qui inhibe, entre autres, l'acétylcholine estérase (AChE), l'enzyme de dégradation de l'acétylcholine (ACh) qui joue un rôle fondamental au niveau synaptique pour éviter une accumulation du neurotransmetteur et une sur-stimulation des récepteurs cholinergiques (Yi et coll., 2006 ; Padilla et coll., 2007 ; Satpal et coll., 2010). Une accumulation d'ACh conduit à des paralysies chez les insectes et bloquent ainsi la respiration. Compte tenu de la conservation de ce système dans l'évolution, les inhibiteurs de l'AChE sont donc aussi susceptibles de cibler les mammifères (ou des insectes non pathogènes). Chez l'être humain, le CPF est métabolisé au niveau hépatique en CPF oxon (CPO). Le CPF et le CPO font tous deux l'objet d'études sur des modèles de gliomes.

Les cellules C6 de rat représentent un modèle classique qui peut être utilisé aussi bien à l'état non différencié (prolifératif) que différencié ; ainsi le taxol ou la dexaméthasone peuvent être utilisés comme agent de différenciation neuronale ainsi que le butyrate qui induit un étalement des cellules et l'apparition d'extensions membranaires. Ces cellules peuvent être donc étudiées à l'état non différencié, au cours de la différenciation ou à l'état différencié. À l'état non différencié, le CPF bloque de façon dose-dépendante la synthèse d'ADN sans qu'il y ait implication de la signalisation cholinergique (pas de blocage de l'AChE). Cet effet est aussi observé avec des astrocytes de rat fœtal et une lignée humaine d'astrocytome (1321N1) avec des $IC50^{25}$ entre 45 et 57 µM (Guizzetti et coll., 2005).

25. Les concentrations nécessaires pour provoquer un effet inhibiteur à hauteur de 50 %.

Une interaction directe entre le CPO et les adénylate cyclases dans une lignée neuroblastome-gliome (NG108-15) a également été identifiée (Huff et Abou-Donia, 1995). Le traitement avec le CPO, à des concentrations de l'ordre du mM, conduit à une inhibition de l'activité de ces enzymes produisant l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc), un second messager. Ce dernier est associé au processus de différenciation cellulaire suggérant que le CPO soit à l'origine d'un blocage de celui-ci et au maintien des cellules dans un état prolifératif. Cet effet sur les adénylate cyclases est aussi observé sur les cellules C6, différenciées ou non, traitées avec du CPF à 5 mg/l (soit 14 µM), avec un effet plus prononcé dans les cellules natives (Garcia et coll., 2001). Cette hypothèse mécanistique est vérifiée par Sachana et coll. qui montrent que la différenciation est bloquée par le CPO à des concentrations comprises entre 1 et 10 µM (Sachana et coll., 2008). Compte tenu de l'implication du cytosquelette dans la formation des extensions membranaires, les auteurs ont analysé plusieurs composants de ce dernier : un traitement court au CPF (4 h) diminue les niveaux protéiques de MAP1B, une protéine du cytosquelette ; le même phénomène est observé sur l'expression de la tubuline et de MAP2c après un traitement de 24 h.

Au cours de la différenciation des cellules C6, le CPF provoque une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et une baisse de l'activité du facteur de transcription Sp1 (Garcia et coll., 2001). Les ERO sont associées dans d'autres cellules à l'activation de voies de signalisation de la prolifération et l'apparition de dommages sur des macromolécules clés (ADN, protéines, lipides).

Dans des cellules C6 différenciées, Munoz et coll. montrent par ailleurs que le CPF (24 h, 10 µM) conduit à une augmentation d'activité de la transglutaminase 2 (TG2) sans modifier son niveau d'expression (Munoz et coll., 2010). Or, la TG2 est un facteur qui peut favoriser la survie des gliomes et/ou leur prolifération (phénomènes démontrés par l'utilisation d'inhibiteurs) (Gundemir et coll., 2017).

Carbamates

Un carbamate est un groupement chimique dérivé de l'acide carbamique (NH_2COOH) rencontré dans de nombreuses molécules à usage multiple (plastiques, cosmétiques et pesticides de nature variée). Trois types de pesticides sont des carbamates : les insecticides (carbamates, inhibiteurs de l'AChE, utilisés depuis les années 1950), les herbicides (carbamates ou thiocarbamates, avec un atome de soufre remplaçant un atome d'oxygène) et les fongicides (essentiellement dithiocarbamates, deux atomes de soufre à la

place des atomes d'oxygène). Compte tenu de leur utilisation relativement ancienne, ils ont donc été, pour certains, très étudiés à l'aide de protocoles expérimentaux variés. Dans cette section, sont distinguées les études sur les carbamates présentant (ou non) des propriétés mutagènes, génotoxiques ou cancérogènes et suspectés d'être associés au travers des études épidémiologiques précédemment décrites à un risque de tumeurs du SNC. Les dithiocarbamates (fongicides, souvent chélateurs de métaux) ont été particulièrement étudiés dans le cadre des pathologies neurodégénératives notamment la maladie de Parkinson.

Études présentant des effets mutagènes, génotoxiques ou cancérogènes mais à des doses relativement élevées

Plusieurs études assez anciennes font référence au prophame (carbamate) comme inhibiteur de la division cellulaire dans des lignées cellulaires (Magistrini et Szollosi, 1980 ; Zilkah et coll., 1981) ou inducteur d'aberrations chromosomiques dans des lymphocytes humains en culture (Georgian et coll., 1985).

L'exposition au chlorprophame (carbamate), un herbicide, administré oralement à des rates pendant la période de gestation à des doses relativement élevées (50-100 mg/kg/j) ne provoque pas d'effets fœtotoxiques ou tératogéniques macroscopiques (Srivastava et coll., 1992). En revanche, aux doses les plus élevées, une étude plus récente a montré une augmentation de l'incidence totale de malformations externes, et à la dose la plus élevée, de l'incidence des portées qui ont un raccourcissement de la queue (Tanaka, 1997 ; Tanaka et coll., 1997). L'utilisation d'un modèle de poulet suggère aussi une fœtotoxicité (Caporiccio et coll., 1981). D'autres études rapportent des effets contradictoires suggérant soit une absence d'effet génotoxique (Dolara et coll., 1993), soit une mutagénicité (Takahashi et coll., 2000). À des doses élevées, le chlorprophame semble toutefois conduire à une hématotoxicité (Fujitani et coll., 1997 ; Fujitani et coll., 2000 ; Fujitani et coll., 2001 ; Fujitani et coll., 2004). Par ailleurs, plusieurs études utilisant le chlorprophame en mélange montrent des effets génotoxiques (Dolara et coll., 1994 ; Lodovici et coll., 1994 ; Lodovici et coll., 1997).

Le propinèbe (dithiocarbamate) présente également des propriétés génotoxiques et cytotoxiques chez la souris, à des doses relativement élevées (Hasegawa et coll., 1993 ; Rasgele et coll., 2014 ; Rasgele, 2014), mais ces résultats ne sont pas confirmés par tous les protocoles d'étude (Rolandi et coll., 1984 ; Hakoi et coll., 1992).

Plusieurs études indiquent que le thirame (dithiocarbamate) peut exercer des effets génotoxiques à dose croissante (par exemple sur des lymphocytes

humains en culture pour des doses supérieures à 1,2 µg/ml) (Santovito et coll., 2012). Des effets pro-oxydants potentiellement en lien avec des effets pro-inflammatoires sont plus précisément observés (Grosicka et coll., 2005 ; Grosicka-Maciag et coll., 2008 ; Kurpios-Piec et coll., 2015a ; Kurpios-Piec et coll., 2015b). Plusieurs études démontrent aussi un potentiel effet génotoxique du thirame sur différents modèles *in vitro et in vivo* (Mosesso et coll., 1994 ; Hemavathi et Rahiman, 1996 ; Shukla et coll., 1996 ; Agrawal et coll., 1997 ; Ardito et coll., 1997).

Études présentant des effets pro-oxydants

La production de dérivés réactifs de l'oxygène voire d'un stress oxydant (production dépassant les limites anti-oxydantes) est un processus communément décrit en cas d'exposition aux carbamates.

Le méthiocarbe (carbamate) a fait l'objet de plusieurs études sur son rôle potentiel pro-oxydant dans divers systèmes. Il est ainsi suspecté, sur des expositions à doses relativement faibles, d'induire une peroxydation lipidique (Ozden et coll., 2009 ; Ozden et Alpertunga, 2009 ; Ozden et coll., 2013) notamment au niveau membranaire et nucléaire (et donc à l'origine d'une génotoxicité). Ces effets de peroxydation sont observés dans divers organes dont le cerveau (Ozden et Alpertunga, 2010).

Si des effets de dommage à l'ADN sont référencés pour le zinèbe (dithiocarbamate polymérisé avec du zinc) (Tripathy et coll., 1988 ; Franekic et coll., 1994 ; Soloneski et coll., 2001), le plus grand nombre d'études porte sur ses effets pro-oxydants dans plusieurs régions cérébrales comme la substance noire, le cortex ou l'hippocampe (Astiz et coll., 2009 ; Astiz et coll., 2012). Ces effets sont observés à des doses relativement élevées ; ils ont été associés à une activation de la voie NFkB (*Nuclear Factor kappa B*) ou de l'apoptose *via* la stimulation de la caspase 3 (Jia et Misra, 2007b ; Jia et Misra, 2007a) et ce, dans de nombreux systèmes cellulaires (Grosicka-Maciag et coll., 2012 ; Grosicka-Maciag et coll., 2013 ; Ali et coll., 2018).

Ces propriétés sont retrouvées pour le manèbe (dithiocarbamate polymérisé avec du manganèse) et le mancozèbe (combinaison du manèbe et du zinèbe) (Domico et coll., 2006) ; elles démontrent une mutagénicité, une génotoxicité ou une carcinogénicité de ces carbamates classiquement associés à la maladie de Parkinson (comme le zirame, diméthyldithiocarbamate-zinc) (National Toxicology Program, 1983 ; Scarabelli et coll., 1993 ; Franekic et coll., 1994 ; Cheng et coll., 2014), en lien avec leurs propriétés pro-oxydantes (voir également plus loin pour la maladie de Parkinson) (Kurzatkowski et Trombetta, 2013). Une étude de transcriptomique assez

récente menée sur une lignée de neuroblastome avec le manèbe et/ou le paraquat, montrent que le manèbe seul conduit à des changements plus importants que le paraquat ou le mélange. L'une des voies de signalisation activées par le manèbe seul était la prolifération cellulaire ce qui est parfaitement cohérent avec une production accrue des dérivés réactifs de l'oxygène connus pour activer certaines voies de signalisation pro-prolifératives comme NFkB (Roede et Jones, 2014).

Études présentant des effets immunomodulateurs

Le manèbe, le métirame (dithiocarbamate-zinc, non décrit comme cancérogène après exposition chronique), le thirame, le zirame et le méthiocarbe ont été décrits comme des immunomodulateurs bloquant la fonction de lyse des cellules « *natural killer* » (NK) ou la prolifération des cellules T dépendantes de l'interleukine 2. Ces effets sont obtenus à des doses, pour la plupart, relativement élevées (10 µM) (Casale et coll., 1993 ; Whalen et coll., 2003 ; Taylor et coll., 2005 ; Taylor et Whalen, 2009 ; Taylor et Whalen, 2011 ; Li et coll., 2012 ; Li et coll., 2014 ; Li et coll., 2015b ; Li et coll., 2015c). Toutefois, certains de ces effets sont obtenus à des faibles doses (< 1 µM) (Wilson et coll., 2004). Ces inhibitions de fonction peuvent potentiellement conduire à une diminution de la vigilance du système immunitaire vis-à-vis de cellules cancéreuses naissantes.

Études présentant des effets cytotoxiques

Une étude des rats mâles Wistar exposés au thiodicarbe (carbamate, inhibiteur d'AChE) pendant 28 j à des doses inhibant AChE (2,9 ou 5,8 mg/kg/j) montre que cette exposition modifie peu les paramètres biochimiques et métaboliques comme la glycémie, les concentrations de protéines plasmatiques, d'urée, de créatinine, d'aspartate et d'alanine aminotransférases (bien qu'ils subissent une augmentation transitoire) ou de la phosphatase alcaline (Satpal et coll., 2010). Toutefois, une étude plus récente réalisée avec des doses légèrement plus élevées (10-40 mg/kg/j) pendant 30 j ne montre pas d'atteinte des paramètres hématologiques mais une augmentation stable de ceux de l'aspartate aminotransférase et de la phosphatase alcaline. Ces résultats sont cohérents avec une atteinte tissulaire notamment hépatique (vacuolisation, microhémorragies) et rénale (glomérulaire et tubulaire). Des modifications sont aussi observées dans la rate, le thymus et le testicule. Sur le plan cytologique, une augmentation des lymphocytes T est observée (Dias et coll., 2013).

Le dioxacarbe (carbamate) est cytotoxique sur des lymphocytes humains à des doses > 250 ppm, et la quantification des aberrations chromosomiques à

une dose plus faible (62,5 ppm) ne révèle pas d'effets génotoxiques (Eren et coll., 2015). La molécule ne présente pas de propriétés mutagéniques dans le test d'Ames en présence ou en absence d'activation métabolique (Konuk et coll., 2008).

Un effet cytotoxique du propamocarbe (carbamate) est retrouvé par Aydemir et coll. qui ont montré une réduction de l'index mitotique de cellules de moelle osseuse de souris exposées à des doses élevées (50-400 mg/kg), mais sans atteinte génotoxique (Aydemir et Bilaloglu, 2004). L'utilisation de cultures primaires de neurones de rat a permis de montrer une atteinte des neurofilaments en cas d'exposition au propamocarbe (Schmuck et Mihail, 2004). Les auteurs posent l'hypothèse d'une liaison du pesticide sur des groupements thiols de ces protéines fibrillaires. Skandrani et coll. démontrent également que les concentrations de 4 pesticides dont 3 carbamates (formétanate, méthomyl, pyrimicarbe) dans 4 formulations sont beaucoup plus élevées que celles capables de provoquer une cytotoxicité sur le modèle pulmonaire A549 avec notamment un stress du réticulum endoplasmique (et une diminution associée de synthèse protéique) (Skandrani et coll., 2006).

Le propinèbe provoque un remaniement du cytosquelette à la fois sur modèles cellulaires astrocytaires et musculaires (Schmuck et coll., 2002 ; Marinovich et coll., 2003). Il provoque une libération de l'ACh par les cellules PC12 de phéochromocytome de rat (Viviani et coll., 2008). L'effet est dose-dépendant entre 0,001 et 100 nM mais avec un effet maximal observé aux doses intermédiaires (0,1-1 nM). À ces mêmes doses, une dépolymérisation de l'actine est aussi observée. Cet effet sur le cytosquelette est observé avec d'autres pesticides comme le disulfirame ou le chlorprophame. Contrairement à certains composés (comme la colchicine), les effets sur l'actine de ces deux pesticides nécessitent des cellules intègres suggérant la modulation de certaines voies de signalisation et non un effet moléculaire direct sur le cytosquelette (Michel et coll., 1980 ; Dikshith et coll., 1989 ; Viviani et coll., 2008).

Études présentant des effets de perturbation endocrinienne (pro-œstrogéniques, anti-androgéniques et plus généralement de modulateurs de récepteurs de xénobiotiques)

Des études menées sur différents modèles cellulaires montrent que certains carbamates comme le méthiocarbe potentialise faiblement l'activité du récepteur alpha des œstrogènes (Tange et coll., 2016), probablement par une stimulation de l'activité aromatase (Andersen et coll., 2002). À l'inverse, des tests utilisant des gènes rapporteurs ne montrent pas d'activité œstrogénique du propamocarbe, du fénoxycarb (carbamate), ou du chlorprophame

(carbamate) (Nakagawa et coll., 2004a ; Bonefeld-Jorgensen et coll., 2005 ; Orton et coll., 2009 ; Spirhanzlova et coll., 2017). Le chlorprophame est toutefois décrit comme un anti-androgénique (Orton et coll., 2012) tout comme un certain nombre de carbamates (Orton et coll., 2012).

Des études plus récentes permettent de différencier l'effet des carbamates sur les deux récepteurs des œstrogènes (α et β). Ainsi, le méthiocarbe présenterait une activité agoniste plus importante sur le ERβ que sur le ERα (Kojima et coll., 2004). De plus, une augmentation de l'expression de l'ARNm du ERβ est observée dans la lignée humaine tumorale mammaire MCF-7 après seulement 3 h d'exposition au méthiocarbe (Hofmeister et Bonefeld-Jorgensen, 2004). Plus récemment, un effet équivalent a été observé sur le ERα mais au niveau protéique chez les souris exposées au méthiocarbe à des doses relativement faibles 0,03-3 µg/kg (Han et coll., 2009). Le méthiocarbe présente également une activité d'agoniste vis-à-vis de deux récepteurs nucléaires : PXR et PPAR-α (Fujino et coll., 2016). Certains carbamates ont aussi été identifiés comme des modulateurs positifs de la voie de signalisation AhR, susceptibles de déclencher certains effets toxiques en plus de leur rôle dans la détoxification des xénobiotiques (Long et coll., 2003).

Enfin, certains carbamates semblent en mesure d'impacter indirectement le système endocrinien. C'est le cas du zirame qui inhibe l'aromatase humaine, l'enzyme qui produit les œstrogènes, ou les 11β-hydroxysteroïde déshydrogénases qui régulent les niveaux de glucocorticoïdes (Li et coll., 2016 ; Chen et coll., 2017).

Études présentant des effets mitotoxiques et de perturbation métabolique

Le manèbe a été associé à la dégénérescence des neurones dopaminergiques dans le cadre du développement de la maladie de Parkinson dans plusieurs études expérimentales (Coughlan et coll., 2015 ; Cao et coll., 2019). Sur le plan moléculaire, le manèbe cible le complexe III de la chaîne respiratoire (Zhang et coll., 2003). Cette inhibition pourrait favoriser l'émergence de cellules cancéreuses glycolytiques (effet Warburg) au niveau des populations gliales. Le propinèbe et le chlorprophame sont aussi identifiés comme des inhibiteurs des fonctions mitochondriales (Ekinci et coll., 2014 ; Muranli et coll., 2015) ; une étude de Nakagawa et coll. montre ainsi que le chlorprophame (plutôt que les métabolites) conduit à une forte déplétion des concentrations en ATP intracellulaires en lien avec une mitotoxicité (Nakagawa et coll., 2004b). Ce phénomène est aussi observé en cas d'exposition au propamocarbe ou fénoxycarb selon une étude réalisée sur des cultures primaires neuronales de rat ; il s'accompagne néanmoins d'une diminution de la consommation de glucose (sans modification des niveaux de glutathion

réduit, signe d'un stress oxydant) (Schmuck et Mihail, 2004). Les auteurs posent donc l'hypothèse d'une baisse d'activité de la glycolyse. Or, une étude récente montre que le propamocarbe à des doses relativement élevées pendant 7 j d'exposition sur des adultes mâles de poisson zèbre (100-1 000 µg/l) diminue à la plus forte dose le contenu en triglycérides hépatiques (Zhang et coll., 2019). Le traitement diminue également l'expression de nombreuses enzymes de la glycolyse et du métabolisme des lipides ; par exemple, hexokinase-1 (HK1), pyruvate kinase (PK), acyl-CoA oxydase (Aco), acétyl-CoA carboxylase-1 (Acc1), diacylglycérol acyltransférase (Dgat), et acide gras synthase (*fatty acid synthase* ; Fas), ainsi que d'autres facteurs (*apolipoprotein A-IV-like*) ou récepteurs (*peroxisome proliferator activated receptor alpha* ; Ppar-α) des métabolismes précités et de surcroît, les quantités de métabolites associés à ces voies. Cet effet est cohérent avec celui identifié dans une étude précédente qui a rapporté une consommation de glucose abaissée et une diminution d'expression de la HK1 et de la PK (Schmuck et Mihail, 2004). L'effet sur les triglycérides doit en revanche être considéré avec prudence car celui-ci dépend probablement du type de carbamate utilisé, de la dose ou du type cellulaire. En effet, Lim et coll. montrent que le fénoxycarb favorise, à l'inverse de l'étude de 2019, l'accumulation de triglycérides dans le modèle adipocytaire murin 3T3-L1 de manière comparable à celui de la rosiglitazone (c'est-à-dire par activation spécifique du récepteur PPAR-γ). Cette activation s'accompagne d'une augmentation d'expression du transporteur d'acides gras, FATP1 (*fatty acid transporter protein* 1) (Lim et coll., 2016). Plus récemment, une étude sur le zirame montre que celui-ci exerce un effet inhibiteur sur l'expression de plusieurs enzymes impliquées dans la synthèse de neurostéroïdes (5α-réductase-1, 3α-hydroxystéroïde déshydrogénase) au niveau cérébral (Su et coll., 2018).

Autres effets sur le système nerveux central potentiellement en lien avec des mécanismes de cancérogenèse

Sur le plan neurodéveloppemental, l'administration de chlorprophame à des souris sur une longue période (chez la génération F0 à partir de 5 semaines et leur descendance (F1) jusqu'à 9 semaines) à des doses de 500-2 000 mg/kg conduit à des effets neurocomportementaux marqués suggérant un passage du composé au niveau du SNC (Tanaka, 1997 ; Tanaka, 1999).

Au niveau tissulaire, le mancozèbe, un fongicide organométallique (Manganèse/Zinc), présente une neurotoxicité révélée par l'utilisation de différents modèles expérimentaux. L'administration de doses relativement élevées de mancozèbe, seul ou en mélange avec de l'imidaclopride, à des souris conduit à des altérations du système hypothalamique ou pyramidal au cours du

développement, caractérisées par la variation des niveaux de neurotransmetteurs, la démyélinisation et l'augmentation d'expression de la kisspeptine (Overgaard et coll., 2013 ; Pena-Contreras et coll., 2016 ; Bhaskar et coll., 2017 ; Morales et coll., 2018). De surcroît, le mancozèbe conduit à des dommages à l'ADN (Cheng et coll., 2014) et à une sensibilisation de l'effet d'autres pesticides ou dérivés comme le MPP+, inducteur de syndrome parkinsonien par activation de NFkB, effet également retrouvé avec le zinèbe (Jia et Misra, 2007b ; Williams et coll., 2013 ; Cheng et coll., 2014). Cette toxicité du mancozèbe s'exerce spécifiquement sur les neurones GABAergiques et dopaminergiques (Soleo et coll., 1996 ; Domico et coll., 2006 ; Negga et coll., 2012 ; Harrison Brody et coll., 2013). Des expériences menées sur le nématode *C. elegans* à l'aide d'antagonistes des transporteurs de dopamine montrent que ceux-ci jouent un rôle prépondérant dans la toxicité du mancozèbe (du fait de l'import du carbamate dans cette cellule). Ces résultats ne sont pas retrouvés avec les antagonistes du transport du GABA (Montgomery et coll., 2018). Sur le plan mécanistique, la libération du manganèse par le mancozèbe impacterait la fonction de diverses cibles membranaires telles que le canal potassium voltage dépendant *KCNQ2*, dont le gène est mis en cause dans les encéphalopathies épileptiques précoces (un groupe de maladies rares et sévères du développement cérébral s'accompagnant de crises d'épilepsie récurrentes et incurables) (Li et coll., 2013). Une accumulation intracellulaire du manganèse peut aussi avoir un effet sur la respiration mitochondriale (Domico et coll., 2006), comme cela a été montré sur des astrocytes d'hippocampe de rat (Tsang et Trombetta, 2007). Ces effets de sensibilisation ou de mitotoxicité identifiés dans un cadre neurologique sont, comme évoqué précédemment, des modes d'action qui peuvent contribuer à un processus de cancérogenèse.

L'exposition au zirame est associée à un risque plus élevé de développer la maladie de Parkinson (Wang et coll., 2011). Son mode d'action est une liaison aux fonctions thiol des cystéines. Il agit sur des protéines, comme par exemple certaines enzymes des champignons, conduisant à leur inactivation et à un effet fongicide. Des études expérimentales montrent que le zirame peut atteindre le SNC par exposition de la muqueuse nasale et son transfert *via* les nerfs olfactifs (Mack et coll., 2018) ; ce mode d'exposition s'il est continu sur 4 j (1 mg/j) induit des déficits neurologiques et moteurs persistants pendant 7 j. Des dérégulations des niveaux de certains neurotransmetteurs dans le bulbe olfactif sont observées également (sérotonine, noradrénaline), associées à un stress oxydant (Mack et coll., 2018). Les mêmes effets sont aussi observés dans des astrocytes de l'hippocampe chez le rat (Matei et Trombetta, 2016) ou dans des systèmes cellulaires comme les HEK293 (Dennis et Valentine, 2015). Le zirame possède un effet inhibiteur sur le

système ubiquitine protéasome favorisant ainsi l'agrégation des protéines, une des caractéristiques cytologiques de la maladie de Parkinson (Wang et coll., 2006 ; Chou et coll., 2008 ; Cao et coll., 2018). Cet effet est cohérent avec l'accumulation d'α- et γ-synucléine observée *in vivo* par exemple sur le modèle poisson zèbre au niveau du système dopaminergique (Lulla et coll., 2016). Par ailleurs, le zirame pourrait impacter l'homéostasie calcique (Han et coll., 2003) en ciblant par exemple le transporteur NCX3 (Na^+-Ca^{2+} *exchanger* 3) comme le montrent des études de protection utilisant des modèles NCX3 $^{-/-}$ (Jin et coll., 2014).

Un grand nombre d'études similaires sur le plan thématique porte sur le manèbe (voir plus haut). Associé tout comme le zirame au développement de la maladie de Parkinson (Wang et coll., 2011 ; Pouchieu et coll., 2018b), le manèbe provoque une alkylation des thiols des protéines et cible le complexe III de la chaîne respiratoire dans un modèle de neuroblastome entraînant une diminution de la consommation d'O_2 et une baisse de la fonction glycolytique et de la production d'ATP (Anderson et coll., 2018). Une dérégulation de la chaîne respiratoire (accumulation d'électrons transférés alors sur l'O_2) peut conduire à un stress oxydant. Celui-ci peut entraîner une agrégation des protéines, deux phénomènes expliquant la maladie de Parkinson (Thrash et coll., 2007) ; l'agrégation protéique pourrait être liée à une polarisation de la microglie vers le phénotype inflammatoire M1 (Hou et coll., 2018). Ces effets sont fréquemment analysés en co-exposition avec le paraquat pour le manèbe (Thiruchelvam et coll., 2002 ; Singhal et coll., 2013). Une étude de Roede et coll. (2011) suggère toutefois que dans les mélanges du paraquat et du manèbe, le paraquat serait responsable de l'effet pro-oxydant et le manèbe des alkylations. Le zirame et le manèbe pourraient donc agir comme des molécules pro-alkylantes à l'origine de la dérégulation de nombreux processus cellulaires notamment en cas de co-exposition nécessitant des phénomènes d'adaptation rapide de la cellule (Barlow et coll., 2005). Cet effet rejoint celui observé avec le carbaryl (carbamate), un inhibiteur de l'agrégation de plaquettes sanguines humaines à des doses élevées (10 µM) du fait de la formation de liaisons covalentes sur plusieurs protéines plaquettaires dont la cyclooxygénase (selon un mécanisme rappelant celui de l'aspirine) (Krug et coll., 1988). L'ensemble de ces processus (stress oxydant, agrégation protéique, phénotype inflammatoire) peut être observé au cours de la cancérogenèse.

Enfin, un dernier mécanisme potentiellement impliqué dans la toxicité des carbamates concerne leurs effets sur la distribution d'autres contaminants. Le thirame est suspecté de favoriser l'accumulation de plomb en cas de co-intoxication par la formation d'un complexe liposoluble permettant un

passage plus aisé au travers de la barrière hémato-encéphalique (Oskarsson, 1984 ; Oskarsson et Lind, 1985). Cet effet serait intéressant à étudier dans le cadre de molécules co-contaminantes cancérogènes.

En résumé, des données issues des études mécanistiques sur le lindane, le CPF et certains membres de la famille des carbamates sur des modèles neuronaux renforcent la plausibilité d'un lien avec la survenue de tumeurs du SNC. Le lindane, un cancérogène avéré, perturbe la synthèse et le transport de protéines. Plusieurs pistes peuvent être évoquées pour expliquer un effet cancérogène du CPF ou de ses métabolites : *i*) un blocage de la différenciation et un maintien dans un état prolifératif par diminution des niveaux d'AMPc ou production d'ERO, et *ii*) une survie cellulaire favorisée par une augmentation de l'activité de la TG2. Des effets mutagènes ou génotoxiques ont été mis en évidence pour les carbamates, mais à des doses relativement élevées. Deux membres de cette famille, le manèbe et le zirame, ont été particulièrement étudiés dans le cadre de la maladie de Parkinson et leurs effets suspectés de contribuer à cette pathologie (agrégation de protéines, activité pro-oxydante) peuvent également expliquer certains processus de cancérogénicité. En outre, d'autres mécanismes potentiellement impliqués ont été mis en lumière tels que la perturbation endocrinienne ou métabolique, la mitotoxicité, des effets immunomodulateurs, ou la modification de la distribution d'autres contaminants. Ces effets mériteraient d'être validés sur d'autres modèles expérimentaux (co-cultures, systèmes 3D, « organoïdes de cerveaux ») et à travers des études réalisées sur ces pesticides en mélange ou en présence d'autres cancérogènes.

Conclusion

Lors de la précédente expertise collective sur les pesticides, réalisée en 2013, le nombre d'études portant sur la survenue de tumeurs cérébrales était relativement limité (environ une vingtaine), et elles reposaient sur un faible nombre de cas et n'exploraient qu'imparfaitement l'exposition. Sur la base des données disponibles, l'expertise avait alors conclu à une présomption « faible » d'un lien entre l'exposition aux pesticides et les tumeurs cérébrales en population agricole mais n'avait pas pu conclure sur des matières actives précises. Depuis, 12 études nouvelles ont été identifiées dont 1 méta-analyse, 7 analyses au sein de deux grandes cohortes (AHS aux États-Unis et AGRICAN en France) et 4 études cas-témoins. La méta-analyse et les études cas-témoins vont dans le sens d'une élévation du risque en milieu agricole, mais ne permettent pas de préciser la force de l'association ni les substances potentiellement en cause. La cohorte américaine a mis en évidence des

élévations de risque chez les conjointes des applicateurs de pesticides en lien avec l'utilisation des organochlorés. Les données issues de la cohorte française montrent un excès de tumeurs chez les cultivateurs, les éleveurs et les utilisateurs de pesticides (plus marqués pour certaines cultures et pour des expositions longues) et des associations significatives avec les insecticides, fongicides et herbicides de la famille des carbamates. Sur la base de ces résultats, nous concluons à une présomption « moyenne » d'un lien entre l'exposition aux pesticides et les tumeurs du système nerveux central chez les populations agricoles. Les résultats des études expérimentales *in vitro* ou *in vivo* sur les modèles neuronaux confortent la plausibilité biologique d'un lien entre l'exposition à certains pesticides, notamment les carbamates, avec la survenue de tumeurs cérébrales.

Tableau 10.I : Caractéristiques et résultats des études publiées depuis l'expertise collective de 2013

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Méta-analyse						
Li et coll., 2015a	Études cas-témoins chez l'adulte publiées avant juin 2014, portant sur le lien entre gliome et pesticides 11 études retenues comprenant 6 393 cas et 15 258 témoins	Gliomes confirmés médicalement	Exposition aux pesticides, insecticides ou herbicides	Recueil par questionnaire, entretien présentiel ou téléphonique	Études hospitalières et/ou en population Mode de recueil des données Sexe	Pesticides : RR = 1,15 [0,96-1,37] Insecticides : RR = 0,96 [0,76-1,22] Herbicides : RR = 1,07 [0,87-1,32]
Cohortes prospectives						
Silver et coll., 2015 États-Unis (Iowa, Caroline du Nord) *Agricultural Health Study*	49 616 applicateurs de pesticides Inclusion entre 1993-1997, suivi jusqu'en 2010/2011 5 701 cas incidents de cancer (dont 31 tumeurs cérébrales chez les personnes exposées au métolachlore et 38 chez les non exposées)	Tumeurs cérébrales CIM-O-2	26 505 applicateurs (53 %) ont utilisé le métolachlore.	Nombre cumulé de jours d'exposition pondéré par l'intensité (quartiles) Latence de 5 ans	État de résidence, âge, tabagisme, alcool, histoire familiale de cancer, exposition aux pesticides corrélés (alachlore, atrazine, dicamba, imazéthapyr et trifluraline)	Métolachlore : RR = 1,31 ; IC 95 % [0,52-3,29] pour le 4e quartile d'exposition *versus* aucune exposition, sans tendance positive
Lerro et coll., 2018 États-Unis (Iowa, Caroline du Nord) *Agricultural Health Study*	49 685 applicateurs de pesticides Inclusion entre 1993-1997, suivi jusqu'en 2012/2013 6 671 cas incidents de cancer (dont 41 tumeurs cérébrales chez les personnes exposées à l'alachlore et 39 chez les non exposées)	Tumeurs cérébrales CIM-O-3	25 640 applicateurs (51,6 %) ont utilisé l'alachlore.	Nombre cumulé de jours d'exposition pondéré par l'intensité (quartiles) Latence de 10 ans	État de résidence, âge, tabagisme, alcool, histoire familiale de cancer, exposition aux pesticides corrélés (atrazine, cyanazine, métolachlore, 2,4-D et terbufos)	Alachlore : RR = 0,83 ; IC 95 % [0,35-1,97] pour le 4e quartile d'exposition *versus* aucune exposition, sans tendance positive

Tableau 10.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Lerro et coll., 2015 États-Unis (Iowa, Caroline du Nord) *Agricultural Health Study*	Conjointes (n = 30 003) d'une cohorte d'applicateurs de pesticides Inclusion entre 1993-1997, suivi jusqu'en fin 2010/2011 2 712 cas incidents de cancer (dont 38 tumeurs cérébrales)	Tumeurs cérébrales CIM-O-3	25,9 % ont utilisé au moins un organophosphoré (19,5 % malathion, 10,3 % diazinon).	Déclaration sur l'usage des insecticides OP (chlorpyrifos, coumaphos, diazinon, dichlorvos, fonofos, malathion, parathion, phorate, terbufos, trichlorfon)	État de résidence, âge, tabagisme, ethnie, alcool, niveau d'études, IMC, histoire familiale de cancer	OP : RR = 1,29 ; IC 95 % [0,53-3,12] Malathion : RR = 1,57 ; IC 95 % [0,65-3,78]
Louis et coll., 2017 États-Unis (Iowa, Caroline du Nord) *Agricultural Health Study*	Inclusion entre 1993-97 Suivi jusqu'en 2012/2013 Questionnaire auprès des conjoint(e)s (n = 32 345) sur 50 pesticides dont 7 OC étudiés dans cette publication Exclusion des hommes, informations manquantes : analyse sur 28 909 femmes 44 cas de gliomes, dont 11 chez les exposées aux OC	Croisement avec des registres de cancer Gliomes	52,3 % des femmes ont utilisé des pesticides. 7,6 % ont utilisé ≥ 1. OC (chlordane : 4,1 % ; DDT : 3,6 % ; lindane : 1,5 % ; autres <1 %).	Déclaration (oui/non) des participantes sur leur usage professionnel ou domestique des OC au cours de leur vie (aldrine, chlordane, dieldrine, DDT, heptachlore, lindane et toxaphène) Analyse de sensibilité en réunissant aldrine et dieldrine (métabolite) Pas de données sur la durée, la période, et l'intensité de l'utilisation	Âge, niveau d'études, alcool, tabagisme, État de résidence, IMC, race, antécédents familiaux de cancer, utilisation de pesticides, autres facteurs selon les cancers	OC : OR = 3,5 [1,7-7,2]*, Lindane : OR = 4,5 [1,4-14,6]* Chlordane : OR = 1,8 [0,6-5,1]
Piel et coll., 2017 France Cohorte AGRICAN	Inclusion à partir de 2005 de 181 842 affiliés ≥ 3 ans à la MSA dans 11 départements français Suivi au 31 décembre 2011 Hommes et Femmes > 18 ans Salariés et exploitants Retraités et actifs Analyse sur 146 745 personnes 273 cas de tumeurs du SNC au cours du suivi : 126 gliomes, 87 méningiomes, 44 autres	Croisement avec des registres de cancer Tumeurs du SNC malignes et bénignes de type gliome, méningiome ou autres[†]	50 % des cultivateurs ont traité au moins une des 11 cultures. 39 % des éleveurs ont traité des animaux.	Questionnaire postal : calendrier professionnel et historique des cultures (n = 13) et des élevages (n = 5). Tâches réalisées dont l'usage de pesticides (début et fin) Durée d'exposition Intoxication par un pesticide	Âge, sexe, niveau d'études, tabagisme, alcool	**Exposition à au moins une culture ou élevage** : Toutes tumeurs du SNC : HR = 1,73 [1,01-2,94]* Gliomes : HR = 1,55 [0,79-3,03] Méningiomes : HR = 1,54 [0,59-3,97] **Toutes tumeurs du SNC** : Application de pesticides : HR = 1,96 [1,11-3,47]* Pois : HR = 2,48 [1,45-4,26]* Betteraves : HR = 2,07 [1,39-3,07]* Pommes de terre : HR = 1,64 [1,13-2,39]*

Tableau 10.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Piel et coll., 2019b France Cohorte AGRICAN	Inclusion à partir de 2005 : 181 842 affiliés ≥ 3 ans à la MSA dans 11 départements français. Hommes et Femmes > 18 ans Salariés et exploitants Retraités et actifs Suivi au 31 décembre 2013 Analyse sur 170 858 personnes 381 cas incidents de tumeurs du SNC (164 gliomes, 134 méningiomes, 83 autres)	Croisement avec des registres de cancer Tumeurs malignes et bénignes de type gliome, méningiome ou autres[1]	24 % des participants exposés à ≥ 1 insecticide carbamate au cours de la vie, dont 45 % par le seul traitement des cultures (± traitement des semences), 33 % par le traitement de cultures et animaux	Application de la matrice PESTIMAT pour estimer l'exposition (oui/non, durée) à 19 insecticides carbamates en fonction des cultures et des élevages : aldicarbe, bendiocarbe, benfuracarbe, carbaryl, carbofuran, carbosulfan, dimétilan, dioxacarbe, éthiophencarbe, fénoxycarb, formétanate, furathiocarbe, isolane, méthiocarbe, méthomyl, pirimicarbe, promécarbe, thiodicarbe, thiofanox	Âge, sexe, niveau d'études, tabagisme, alcool	**Toutes tumeurs du SNC** : Exposition à au moins un insecticide carbamate : HR = 1,47 [1,03-2,10]* Élévation de risque pour toutes les substances : HR entre 1,43 et 2,91 Augmentation du risque avec la durée : HR ≥ 30 ans = 1,85 [1,14-3,00]* **Gliomes** : Formétanate : HR = 4,60 [1,67-12,7]* Dioxacarbe/promécarbe : HR = 3,0 [1,46-6,17]* Isolane : HR = 2,40 [1,12-5,12]* **Méningiomes** : Thiofanox : HR = 3,67 [1,16-11,56]* Isolane : HR = 3,59 [1,38-9,34]* Dioxacarbe/promécarbe : HR = 3,43 [1,44-8,19]*

Tableau 10.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Piel et coll., 2019a France Cohorte AGRICAN	Inclusion à partir de 2005 : 181 842 affiliés ≥ 3 ans à la MSA dans 11 départements français Hommes et Femmes > 18 ans Salariés et exploitants Retraités et actifs Suivi au 31 décembre 2013 95 098 personnes classées par rapport à leurs expositions et analysées 381 cas incidents de tumeurs du SNC (164 gliomes, 134 méningiomes, 83 autres)	Croisement avec des registres de cancer Tumeurs malignes et bénignes de type gliome, méningiome ou autres[1]	21 % des participants exposés à ≥ 1 herbicide ou fongicide carbamate au cours de la vie, dont 45 % par le seul traitement des cultures (± traitement des semences), 33 % par le traitement de cultures et animaux	Application de la matrice PESTIMAT pour estimer l'exposition aux carbamates (oui /non, durée) **14 herbicides** de type carbamate (asulame, barbane, chlorbufame, chlorprophame, desmédiphame, phenmédiphame, prophame) ou thiocarbamate (butilate, cycloate, diallate, EPTC, prosulfocarbe, triallate, vernolate) **14 fongicides** de type carbamate (diéthofencarbe, iprovalicarbe, propamocarbe) ou dithiocarbamate (cuprèbe, cuprobame, ferbame, mancopper, mancozèbe, manèbe, métirame, propinèbe, thirame, zinèbe, zirame)	Âge, sexe, niveau d'études, tabagisme, alcool	**Toutes tumeurs du SNC** : Herbicide carbamate : HR = 1,44 [0,94-2,22] Fongicide carbamate : HR = 1,88 [1,27-2,79]* Élévation de risque pour toutes les substances : HR entre 1,13 et 2,45 Augmentation du risque avec la durée pour certaines substances herbicides et pour les fongicides carbamates **Gliomes** : Chlorprophame et/ou prophame : HR = 2,28 [1,06-4,91]* Propamocarbe : HR = 2,94 [1,09-7,90]* Cuprobame : HR = 2,40 [1,19-7,28]* Dithiocarbamates : HR = 2,16 [1,20-3,87]* **Méningiomes** : Chlorprophame et/ou prophame : HR = 2,64 [1,02-6,81]* Diallate : HR = 3,65 [1,24-10,71]* Cuprobame : HR = 3,22 [1,42-7,28]*

Tableau 10.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Études cas-témoins						
Carles et coll., 2017 France Étude CERENAT	Cas de ≥ 16 ans inclus entre 2004-06 en Gironde, Calvados, Manche et Hérault 596 cas 1 192 témoins 1 470 personnes incluses dans les analyses (dont 273 cas de gliomes et 217 cas de méningiomes)	Gliomes, méningiomes, neurinomes, lymphomes CIM-0 3 : C70.0-C70.9 et C72.0-C72.9	*CORINE Land cover* : Exposition dans un rayon de 500 m : 38 % grandes cultures, 28 % vignes, 1 % arboriculture Recensement agricole : 88 % grandes cultures, 61 % vignes, 35 % arboriculture	Questionnaire standardisé en face à face. Historique des résidences et des professions Géocodage des adresses Croisement avec la base *CORINE Land cover* (à l'aide d'un système d'information géographique) : grandes cultures, vignes, arboriculture Croisement avec recensements agricoles Prise en compte de la durée de résidence	Niveau d'études, tabagisme, alcool, usage du téléphone portable, usage professionnel de pesticides, usage domestique de pesticides	Pas d'association entre proximité aux terrains agricoles et risque de gliome Des tendances entre exposition définie avec le recensement agricole et le risque de méningiome pour les grandes cultures, vignes et vergers Recensement agricole > 75e percentile et risque de méningiome pour les grandes cultures : OR = 2,3 [1,04-5,10]
Fallahi et coll., 2017 Italie	Service de neurochirurgie de l'hôpital de Pise entre 1990 et 2000 174 cas 522 témoins (pathologie non tumorale)	Méningiomes malins et tumeurs cérébrales malignes CIM 10 : C70.0 ; C71.0-C71.9 Pas d'analyse par type histologique	12 % d'agriculteurs chez les cas et 6 % chez les témoins	Histoire professionnelle : agriculteur oui/non Pas de notion sur le secteur agricole ou sur les tâches réalisées, pas de précision sur les utilisations de pesticides	Race, âge, niveau d'études, lieu de résidence	Agriculteur *versus* non agriculteur OR = 2,2 [1,2-4,0] ; p = 0,008

Tableau 10.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Salerno et coll., 2016 Italie (Province de Vercelli)	Population résidant pendant 1 année entre 2002-09. Âge 25 à 79 ans Cas : nouveaux cas de cancers (registre hospitalier et certificats de décès, rapports anapath.) (n = 887) Témoins : résidents de la même zone à la même période, même âge (n = 11 491)	Tumeurs du SNC	Zone de riziculture : 26 molécules citées : herbicides amides	Profession d'agriculteur oui/non : données de la sécurité sociale sur la période 1965-2009	Âge, sexe	Agriculteur *versus* non agriculteur (17 cas de tumeurs du SNC) OR = 2,93 ; p = 0,06
Bhat et coll., 2010 Inde (Cachemire)	Service de neurochirurgie de Srinagar, 2005-08 432 cas de tumeur cérébrale 457 témoins hospitaliers (pathologie non tumorale) + 50 témoins proches (famille) et 50 témoins en population générale dans une région de production fruitière (pommes)	Tumeur cérébrale primitive maligne prouvée histologiquement	Usage rapporté par les auteurs : dithiocarbamates (mancozèbe), dicarboximides (captane), OP (diméthoate, chlorpyrifos), OC (endosulfan) Travail dans les vergers : 90 % des cas *versus* 26 % des témoins 61 % sont exposés directement (travailleurs) ; 39 % sont exposés indirectement (enfants jouant sur la ferme, eau de boisson contaminée, résidence dans la zone des vergers...)	Recueil d'expositions en agriculture : ouvriers, résidents et enfants Détails sur les tâches et produits utilisés, équipements de protection et pratiques (consommation de fruits non lavés dans les champs), lieu de résidence, origine de l'eau de boisson, aire de jeu des enfants Âge et durée de l'exposition Mesure de l'AChE sérique lors de l'hospitalisation (moyenne de 3 mesures)	Âge, sexe, statut de travailleur agricole, AChE sérique	90 % des cas sont des travailleurs de vergers. Baisse de l'AChE sérique chez seulement 45 % des cas exposés Plus faible proportion de personnes avec une AChE normale parmi les cas exposés aux pesticides que parmi les témoins exposés

AchE : acétylcholinestérase ; CIM 10 : classification internationale des maladies, 10e révision ; CIM-O-3 : Classification Internationale des Maladies pour l'Oncologie, 3e révision ; EPA : *Environmental Protection Agency (USA)* ; EPTC : S-éthyl-dipropylthiocarbamate ; IMC : indice de masse corporelle ; MSA : Mutualité sociale agricole ; OC : organochlorés ; OP : organophosphorés. [1] codes CIM-O-3 : 9380/3, 9382/3, 9383/1, 9391/3, 9400/3, 9401/3, 9411/3, 9413/0, 9440/3, 9442/3, 9450/3, 9451/3, 9460/3, 9530/0, 9530/1, 9530/3, 9531/0, 9532/0, 9533/0, 9534/0, 9537/0, 9538/1, 9539/1, 9080/0, 9540/0, 9560/0, 9560/3, 9591/3, 9680/3, 8000/0, 8000/1, 8000/3. Les intervalles de confiance donnés entre parenthèses sont les intervalles de 95 %, sauf si indiqué différemment. * résultat significatif au seuil de 5 %

RÉFÉRENCES

• Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

Acquavella J, Olsen G, Cole P, *et al.* Cancer among farmers: a meta-analysis. *Ann Epidemiol* 1998 ; 8 : 64-74. •

Agrawal RC, Shukla Y, Mehrotra NK. Assessment of mutagenic potential of thiram. *Food Chem Toxicol* 1997 ; 35 : 523-5.

Ali D, Tripathi A, Ali H al, *et al.* ROS-dependent Bax/Bcl2 and caspase 3 pathway-mediated apoptosis induced by zineb in human keratinocyte cells. *Onco Targets Ther* 2018 ; 11 : 489-97.

Andersen HR, Vinggaard AM, Rasmussen TH, *et al.* Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002 ; 179 : 1-12.

Anderson CC, Aivazidis S, Kuzyk CL, *et al.* Acute maneb exposure significantly alters both glycolysis and mitochondrial function in neuroblastoma cells. *Toxicol Sci* 2018 ; 165 : 61-73.

Ardito G, Bigatti P, Lamberti L. Increased frequencies of sister chromatid exchanges and micronuclei in « in vitro » lymphocyte cultures treated with the fungicides thiram and ziram. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1997 ; 73 : 1-7.

Astiz M, De Alaniz MJ, Marra CA. The oxidative damage and inflammation caused by pesticides are reverted by lipoic acid in rat brain. *Neurochem Int* 2012 ; 61 : 1231-41.

Astiz M, De Alaniz MJ, Marra CA. Effect of pesticides on cell survival in liver and brain rat tissues. *Ecotoxicol Environ Saf* 2009 ; 72 : 2025-32.

Aydemir N, Bilaloglu R. The investigation of the genotoxic effects of fenarimol and propamocarb in mouse bone marrow in vivo. *Toxicol Lett* 2004 ; 147 : 73-8.

Barlow BK, Lee DW, Cory-Slechta DA, *et al.* Modulation of antioxidant defense systems by the environmental pesticide maneb in dopaminergic cells. *Neurotoxicology* 2005 ; 26 : 63-75.

Bhaskar R, Mishra AK, Mohanty B. Neonatal exposure to endocrine disrupting chemicals impairs learning behaviour by disrupting hippocampal organization in male Swiss albino mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2017 ; 121 : 44-52.

Bhat AR, Wani MA, Kirmani AR, *et al.* Pesticides and brain cancer linked in orchard farmers of Kashmir. *Indian J Med Paediatr Oncol* 2010 ; 31 : 110-20.

Blair A, Zahm SH, Pearce NE, *et al.* Clues to cancer etiology from studies of farmers. *Scand J Work Environ Health* 1992 ; 18 : 209-15.

Bond GG, Wetterstroem NH, Roush GJ, *et al.* Cause specific mortality among employees engaged in the manufacture, formulation, or packaging of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and related salts. *Br J Ind Med* 1988 ; 45 : 98-105. •

Bondy ML, Scheurer ME, Malmer B, *et al.* Brain tumor epidemiology: consensus from the Brain Tumor Epidemiology Consortium. *Cancer* 2008 ; 113 : 1953-68.

Bonefeld-Jorgensen EC, Grunfeld HT, Gjermandsen IM. Effect of pesticides on estrogen receptor transactivation in vitro: a comparison of stable transfected MVLN and transient transfected MCF-7 cells. *Mol Cell Endocrinol* 2005 ; 244 : 20-30.

Brownson RC, Reif JS, Chang JC, *et al*. An analysis of occupational risks for brain cancer. *Am J Public Health* 1990 ; 80 : 169-72.

Burns C, Bodner K, Swaen G, *et al*. Cancer incidence of 2,4-D production workers. *Int J Environ Res Public Health* 2011 ; 8 : 3579-90. •

Cao F, Souders CL2, Li P, *et al*. Developmental neurotoxicity of maneb: Notochord defects, mitochondrial dysfunction and hypoactivity in zebrafish (Danio rerio) embryos and larvae. *Ecotoxicol Environ Saf* 2019 ; 170 : 227-37.

Cao F, Souders Ii CL, Perez-Rodriguez V, *et al*. Elucidating conservedtTranscriptional networks underlying pesticide exposure and Parkinson's disease: a focus on chemicals of epidemiological relevance. *Front Genet* 2018 ; 9 : 701.

Caporiccio B, Michel R, Tournamille J, *et al*. Effects of propham and chlorpropham on the embryonic development of various vertebrates. *C R Seances Soc Biol Fil* 1981 ; 175 : 811-20.

Carles C, Bouvier G, Esquirol Y, *et al*. Residential proximity to agricultural land and risk of brain tumor in the general population. *Environ Res* 2017 ; 159 : 321-30.

Carreón T, Butler MA, Ruder AM, *et al*. Gliomas and farm pesticide exposure in women: the Upper Midwest Health Study. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 546-51.

Casale GP, Vennerstrom JL, Bavari S, *et al*. Inhibition of interleukin 2 driven proliferation of mouse CTLL2 cells, by selected carbamate and organophosphate insecticides and congeners of carbaryl. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1993 ; 15 : 199-215.

Cheng S-Y, Oh S, Velasco M, *et al*. RTP801 regulates maneb- and mancozeb-induced cytotoxicity via NF-kappaB. *J Biochem Mol Toxicol* 2014 ; 28 : 302-11.

Chen L, Chen X, Chen X, *et al*. Ziram inhibits aromatase activity in human placenta and JEG-3 cell line. *Steroids* 2017 ; 128 : 114-9.

Chou AP, Maidment N, Klintenberg R, *et al*. Ziram causes dopaminergic cell damage by inhibiting E1 ligase of the proteasome. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 34696-703.

Cordier S, Poisson M, Gerin M, *et al*. Gliomas and exposure to wood preservatives. *Br J Ind Med* 1988 ; 45 : 705-9.

Coughlan C, Walker DI, Lohr KM, *et al*. Comparative proteomic analysis of carbonylated proteins from the striatum and cortex of pesticide-treated mice. *Parkinsons Dis* 2015 ; 2015 : 812532.

Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, *et al*. *Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim Volume 1 – Tumeurs solides*. Saint-Maurice, France : Santé publique France, 2019 : 372 p., consulté le 20/01/20 : https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/190597/2335082

Demers PA, Vaughan TL, Schommer RR. Occupation, socioeconomic status, and brain tumor mortality: a death certificate-based case-control study. *J Occup Med* 1991 ; 33 : 1001-6.

Dennis KE, Valentine WM. Ziram and sodium N,N-dimethyldithiocarbamate inhibit ubiquitin activation through intracellular metal transport and increased oxidative stress in HEK293 cells. *Chem Res Toxicol* 2015 ; 28 : 682-90.

Dias E, Gomes M, Domingues C, *et al*. Subacute effects of the thiodicarb pesticide on target organs of male Wistar rats: biochemical, histological, and flow cytometry studies. *J Toxicol Environ Health A* 2013 ; 76 : 533-9.

Dikshith TS, Carrera G, Raizada RB, *et al*. Interaction of hexachlorocyclohexane (HCH) and chlorpropham (CIPC) in male rats. *Toxicol Lett* 1989 ; 45 : 281-8.

Dolara P, Torricelli F, Antonelli N. Cytogenetic effects on human lymphocytes of a mixture of fifteen pesticides commonly used in Italy. *Mutat Res* 1994 ; 325 : 47-51.

Dolara P, Vezzani A, Caderni G, *et al*. Genetic toxicity of a mixture of fifteen pesticides commonly found in the Italian diet. *Cell Biol Toxicol* 1993 ; 9 : 333-43.

Domico LM, Zeevalk GD, Bernard LP, *et al*. Acute neurotoxic effects of mancozeb and maneb in mesencephalic neuronal cultures are associated with mitochondrial dysfunction. *Neurotoxicology* 2006 ; 27 : 816-25.

Ekinci C, Tahaoglu AE, d. Yavuz, *et al*. Ultrastructural effects of the propineb on brain of fetuses during rat pregnancy. *Int J Morphol* 2014 ; 32 : 1467-71.

Eren Y, Erdogmus SF, Akyil D, *et al*. Cytotoxic and genotoxic effects of dioxacarb by human peripheral blood lymphocytes CAs and Allium test. *Cytotechnology* 2015 ; 67 : 1023-30.

Fallahi P, Foddis R, Cristaudo A, *et al*. High risk of brain tumors in farmers: a mini-review of the literature, and report of the results of a case control study. *Clin Ter* 2017 ; 168 : e290-e292.

Figà-Talamanca I, Mearelli I, Valente P, *et al*. Cancer mortality in a cohort of rural licensed pesticide users in the province of Rome. *Int J Epidemiol* 1993 ; 22 : 579-83.

Fincham SM, Hanson J, Berkel J. Patterns and risks of cancer in farmers in Alberta. *Cancer* 1992 ; 69 : 1276-85.

Forastiere F, Quercia A, Miceli M, *et al*. Cancer among farmers in central Italy. *Scand J Work Environ Health* 1993 ; 19 : 382-9.

Franekic J, Bratulic N, Pavlica M, *et al*. Genotoxicity of dithiocarbamates and their metabolites. *Mutat Res* 1994 ; 325 : 65-74.

Fujino C, Tamura Y, Tange S, *et al*. Metabolism of methiocarb and carbaryl by rat and human livers and plasma, and effect on their PXR, CAR and PPARalpha activities. *J Toxicol Sci* 2016 ; 41 : 677-91.

Fujitani T, Tada Y, Yoneyama M. Chlorpropham-induced splenotoxicity and its recovery in rats. *Food Chem Toxicol* 2004 ; 42 : 1469-77.

Fujitani T, Tada Y, Noguchi AT, *et al*. Effects of chlorpropham (CIPC) on the hemopoietic system of rats. *Food Chem Toxicol* 2001 ; 39 : 253-9.

Fujitani T, Tada Y, Fujii A, *et al*. Subchronic toxicity of chlorpropham (CIPC) in ICR mice. *Food Chem Toxicol* 2000 ; 38 : 617-25.

Fujitani T, Tada Y, Noguchi AT, *et al*. Hemotoxicity of chlorpropham (CIPC) in F344 rats. *Toxicology* 1997 ; 123 : 111-24.

Garcia SJ, Seidler FJ, Crumpton TL, *et al*. Does the developmental neurotoxicity of chlorpyrifos involve glial targets? Macromolecule synthesis, adenylyl cyclase signaling, nuclear transcription factors, and formation of reactive oxygen in C6 glioma cells. *Brain Res* 2001 ; 891 : 54-68.

Georgian L, Moraru I, Draghicescu T, *et al*. The effect of low concentrations of carbofuran, choline salt of maleic hydrazine, propham and chlorpropham on sister-chromatid exchanges (sce) frequency in human-lymphocytes invitro. *Mutat Res* 1985 ; 147 : 296.

Grosicka E, Sadurska B, Szumilo M, *et al*. Effect of glutathione depletion on apoptosis induced by thiram in Chinese hamster fibroblasts. *Int Immunopharmacol* 2005 ; 5 : 1945-56.

Grosicka-Maciag E, Szumilo M, Czeczot H, *et al*. Modulation of antioxidant defense system by the dithiocarbamate fungicides Maneb and Zineb in Chinese hamster V79 cells and the role of N-acetyl-L-cysteine. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 60 : 130-4.

Grosicka-Maciag E, Kurpios-Piec D, Szumilo M, *et al*. Dithiocarbamate fungicide zineb induces oxidative stress and apoptosis in Chinese hamster lung fibroblasts. *Pestic Biochem Physiol* 2012 ; 102 : 95-101.

Grosicka-Maciag E, Kurpios D, Czeczot H, *et al*. Changes in antioxidant defense systems induced by thiram in V79 Chinese hamster fibroblasts. *Toxicol In Vitro* 2008 ; 22 : 28-35.

Guizzetti M, Pathak S, Giordano G, *et al*. Effect of organophosphorus insecticides and their metabolites on astroglial cell proliferation. *Toxicology* 2005 ; 215 : 182-90.

Gundemir S, Monteagudo A, Akbar A, *et al*. The complex role of transglutaminase 2 in glioblastoma proliferation. *Neuro-oncology* 2017 ; 19 : 208-18.

Hakoi K, Cabral R, Hoshiya T, *et al*. Analysis of carcinogenic activity of some pesticides in a medium-term liver bioassay in the rat. *Teratog Carcinog Mutagen* 1992 ; 12 : 269-76.

Han J, Park M, Kim J-H, *et al*. Increased expression of the testicular estrogen receptor alpha in adult mice exposed to low doses of methiocarb. *J Appl Toxicol* 2009 ; 29 : 446-51.

Han MS, Shin KJ, Kim YH, *et al*. Thiram and ziram stimulate non-selective cation channel and induce apoptosis in PC12 cells. *Neurotoxicology* 2003 ; 24 : 425-34.

Harrison Brody A, Chou E, Gray JM, *et al*. Mancozeb-induced behavioral deficits precede structural neural degeneration. *Neurotoxicology* 2013 ; 34 : 74-81.

Hasegawa R, Cabral R, Hoshiya T, *et al*. Carcinogenic potential of some pesticides in a medium-term multi-organ bioassay in rats. *Int J Cancer* 1993 ; 54 : 489-93.

Hemavathi E, Rahiman MA. Effect of Ziram, Thiram, and Dithane M-45 on bone marrow cells of mice-assessed by micronucleus test. *Bull Environ Contam Toxicol* 1996 ; 56 : 190-6.

Hofmeister MV, Bonefeld-Jorgensen EC. Effects of the pesticides prochloraz and methiocarb on human estrogen receptor alpha and beta mRNA levels analyzed by on-line RT-PCR. *Toxicol In Vitro* 2004 ; 18 : 427-33.

Hou L, Wang K, Zhang C, *et al*. Complement receptor 3 mediates NADPH oxidase activation and dopaminergic neurodegeneration through a Src-Erk-dependent pathway. *Redox Biol* 2018 ; 14 : 250-60.

Huff RA, Abou-Donia MB. In vitro effect of chlorpyrifos oxon on muscarinic receptors and adenylate cyclase. *Neurotoxicology* 1995 ; 16 : 281-90.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1001 p.

Jia Z, Misra HP. Exposure to mixtures of endosulfan and zineb induces apoptotic and necrotic cell death in SH-SY5Y neuroblastoma cells, in vitro. *J Appl Toxicol* 2007a ; 27 : 434-46.

Jia Z, Misra HP. Reactive oxygen species in in vitro pesticide-induced neuronal cell (SH-SY5Y) cytotoxicity: role of NFkappaB and caspase-3. *Free Radic Biol Med* 2007b ; 42 : 288-98.

Jin J, Lao AJ, Katsura M, *et al*. Involvement of the sodium-calcium exchanger 3 (NCX3) in ziram-induced calcium dysregulation and toxicity. *Neurotoxicology* 2014 ; 45 : 56-66.

Khuder SA, Mutgi AB, Schaub EA. Meta-analyses of brain cancer and farming. *Am J Ind Med* 1998 ; 34 : 252-60.

Kojima H, Katsura E, Takeuchi S, *et al*. Screening for estrogen and androgen receptor activities in 200 pesticides by in vitro reporter gene assays using Chinese hamster ovary cells. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 524-31.

Konuk M, Baris A, Liman R, *et al*. A study on the mutagenicity of different types of pesticides by using the Ames/Salmonella/Microsome test system. *Fresenius Environ Bull* 2008 ; 17 : 463-6.

Kross BC, Burmeister LF, Ogilvie LK, *et al*. Proportionate mortality study of golf course superintendents. *Am. J. Ind. Med.* 1996 ; 29 : 501-6.

Krug HF, Hamm U, Berndt J. Mechanism of inhibition of cyclo-oxygenase in human blood platelets by carbamate insecticides. *Biochem J* 1988 ; 250 : 103-10.

Kurpios-Piec D, Grosicka-Maciag E, Wozniak K, *et al*. Thiram activates NF-kappaB and enhances ICAM-1 expression in human microvascular endothelial HMEC-1 cells. *Pestic Biochem Physiol* 2015a ; 118 : 82-9.

Kurpios-Piec D, Wozniak K, Kowalewski C, *et al*. Thiram modulates pro-inflammatory mediators in RAW 264.7 murine macrophage cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2015b ; 37 : 90-102.

Kurzatkowski DM, Trombetta LD. Maneb causes pro-oxidant effects in the hippocampus of Nrf2 knockout mice. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013 ; 36 : 427-36.

Lee WJ, Colt JS, Heineman EF, *et al*. Agricultural pesticide use and risk of glioma in Nebraska, United States. *Occup Environ Med* 2005 ; 62 : 786-92.

Lee WJ, Hoppin JA, Blair A, *et al*. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the Agricultural Health Study. *Am J Epidemiol* 2004a ; 159 : 373-80.

Lee WJ, Blair A, Hoppin JA, *et al*. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study. *J Natl Cancer Inst* 2004b ; 96 : 1781-9.

Lerro CC, Andreotti G, Koutros S, *et al*. Alachlor use and cancer incidence in the Agricultural Health Study: an updated analysis. *J Natl Cancer Inst* 2018 ; 110(9) : 950-8.

Lerro CC, Koutros S, Andreotti G, *et al*. Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Occup Environ Med* 2015 ; 72 : 736-44.

Li H-X, Meng H-y, Peng X-x, *et al*. A meta-analysis of association between pesticides exposure and glioma risk in adults. *J Craniofac Surg* 2015a ; 26 : 672-3.

Lim S, Choi H, Park S-S, *et al*. Fenoxycarb promotes adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *Entomol Res* 2016 ; 46 : 80-4.

Li P, Zhu J, Kong Q, *et al*. The ethylene bis-dithiocarbamate fungicide Mancozeb activates voltage-gated KCNQ2 potassium channel. *Toxicol Lett* 2013 ; 219 : 211-7.

Li Q, Kobayashi M, Kawada T. Carbamate pesticide-induced apoptosis in human T lymphocytes. *Int J Environ Res Public Health* 2015b ; 12 : 3633-45.

Li Q, Kobayashi M, Kawada T. Effect of carbamate pesticides on perforin, granzymes A-B-3/K, and granulysin in human natural killer cells. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2015c ; 28 : 403-10.

Li Q, Kobayashi M, Kawada T. Carbamate pesticide-induced apoptosis and necrosis in human natural killer cells. *J Biol Regul Homeost Agents* 2014 ; 28 : 23-32.

Li Q, Kobayashi M, Kawada T. Mechanism of ziram-induced apoptosis in human T lymphocytes. *Arch Toxicol* 2012 ; 86 : 615-23.

Li X, Mao B, Dong Y, *et al*. Effects of ziram on rat and human 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms. *Chem Res Toxicol* 2016 ; 29 : 398-405.

Lodovici M, Casalini C, Briani C, *et al*. Oxidative liver DNA damage in rats treated with pesticide mixtures. *Toxicology* 1997 ; 117 : 55-60.

Lodovici M, Aiolli S, Monserrat C, *et al*. Effect of a mixture of 15 commonly used pesticides on DNA levels of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and xenobiotic metabolizing enzymes in rat liver. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1994 ; 13 : 163-8.

Long M, Laier P, Vinggaard AM, *et al*. Effects of currently used pesticides in the AhR-CALUX assay: comparison between the human TV101L and the rat H4IIE cell line. *Toxicology* 2003 ; 194 : 77-93.

Louis LM, Lerro CC, Friesen MC, *et al*. A prospective study of cancer risk among Agricultural Health Study farm spouses associated with personal use of organochlorine insecticides. *Environ Health* 2017 ; 16 : 95.

Lulla A, Barnhill L, Bitan G, *et al*. Neurotoxicity of the Parkinson disease-associated pesticide ziram is synuclein-dependent in zebrafish embryos. *Environ Health Perspect* 2016 ; 124 : 1766-75.

Mack JM, Moura TM, Lanznaster D, *et al*. Intranasal administration of sodium dimethyldithiocarbamate induces motor deficits and dopaminergic dysfunction in mice. *Neurotoxicology* 2018 ; 66 : 107-20.

Magistrini M, Szollosi D. Effects of cold and of isopropyl-N-phenylcarbamate on the second meiotic spindle of mouse oocytes. *Eur J Cell Biol* 1980 ; 22 : 699-707.

Marinovich M, Binaglia M, Viviani B, *et al*. The dithiocarbamate propineb depolymerizes actin and increases acetylcholine release in differentiated PC12 cells. *Toxicol Sci* 2003 ; 72 : 267-8.

Matei A-M, Trombetta LD. Exposure of rat hippocampal astrocytes to Ziram increases oxidative stress. *Toxicol Ind Health* 2016 ; 32 : 579-88.

Michel R, Tournamille J, Caporiccio B, *et al*. Effects of propham and chloropropham on mitosis in cultured human lymphocytes. Ultrastructural study. *C R Seances Soc Biol Fil* 1980 ; 174 : 176-83.

Miranda Filho AL, Koifman RJ, Koifman S, *et al*. Brain cancer mortality in an agricultural and a metropolitan region of Rio de Janeiro, Brazil: a population-based, age-period-cohort study, 1996-2010. *BMC Cancer* 2014 ; 14 : 320.

Miranda-Filho AL, Monteiro GTR, Meyer A. Brain cancer mortality among farm workers of the State of Rio de Janeiro, Brazil: a population-based case-control study, 1996-2005. *Int J Hyg Environ Health* 2012 ; 215 : 496-501.

Montgomery K, Corona C, Frye R, *et al*. Transport of a manganese/zinc ethylene-bis-dithiocarbamate fungicide may involve pre-synaptic dopaminergic transporters. *Neurotoxicol Teratol* 2018 ; 68 : 66-71.

Morales P, Leon-Cuevas PS de, Cuevas S. Evidence of the transgenerational reprotoxicity of glyphosate in four generations of drosophila. *Environ Mol Mutagen* 2018 ; 59 : 105.

Morrison HI, Semenciw RM, Morison D, *et al*. Brain cancer and farming in western Canada. *Neuroepidemiology* 1992 ; 11 : 267-76.

Mosesso P, Turchi G, Cinelli S, *et al*. Clastogenic effects of the dithiocarbamate fungicides thiram and ziram in Chinese hamster cell lines cultured in vitro. *Teratog Carcinog Mutagen* 1994 ; 14 : 145-55.

Mrema EJ, Rubino FM, Brambilla G, *et al*. Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. *Toxicology* 2013 ; 307 : 74-88.

Munoz D, Bonner PLR, Hargreaves AJ. Effects of chlorpyrifos on transglutaminase activity in differentiating rat C6 glioma cells. *Toxicol In Vitro* 2010 ; 24 : 2104-7.

Muranli FDG, Rasgele PG, Kekecoglu M, *et al.* Potential genotoxicity of acetamiprid and propineb singly or in combination in cultured human peripheral blood lymphocytes by using MN assay. *Fresenius Environmental Bulletin* 2015 ; 24 : 3947-55.

Musicco M, Sant M, Molinari S, *et al.* A case-control study of brain gliomas and occupational exposure to chemical carcinogens: the risk to farmers. *Am J Epidemiol* 1988 ; 128 : 778-85.

Nakagawa Y, Nakajima K, Suzuki T. Biotransformation of chlorpropham (CIPC) in isolated rat hepatocytes and xenoestrogenic activity of CIPC and its metabolites by in vitro assays. *Xenobiotica* 2004a ; 34 : 257-72.

Nakagawa Y, Nakajima K, Suzuki T. Chlorpropham induces mitochondrial dysfunction in rat hepatocytes. *Toxicology* 2004b ; 200 : 123-33.

National Toxicology Program. NTP carcinogenesis bioassay of ziram (CAS No. 137-30-4) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Feed Study). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser* 1983 ; 238 : 1-150.

Navas-Acién A, Pollán M, Gustavsson P, *et al.* Interactive effect of chemical substances and occupational electromagnetic field exposure on the risk of gliomas and meningiomas in Swedish men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002 ; 11 : 1678-83.

Negga R, Stuart JA, Machen ML, *et al.* Exposure to glyphosate- and/or Mn/Zn-ethylene-bis-dithiocarbamate-containing pesticides leads to degeneration of gamma-aminobutyric acid and dopamine neurons in Caenorhabditis elegans. *Neurotox Res* 2012 ; 21 : 281-90.

Orton F, Rosivatz E, Scholze M, *et al.* Competitive androgen receptor antagonism as a factor determining the predictability of cumulative antiandrogenic effects of widely used pesticides. *Environ Health Perspect* 2012 ; 120 : 1578-84.

Orton F, Lutz I, Kloas W, *et al.* Endocrine disrupting effects of herbicides and pentachlorophenol: in vitro and in vivo evidence. *Environ Sci Technol* 2009 ; 43 : 2144-50.

Oskarsson A, Lind B. Increased lead levels in brain after long-term treatment with lead and dithiocarbamate or thiuram derivatives in rats. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1985 ; 56 : 309-15.

Oskarsson A. Dithiocarbamate-induced redistribution and increased brain uptake of lead in rats. *Neurotoxicology* 1984 ; 5 : 283-93.

Overgaard A, Holst K, Mandrup KR, *et al.* The effect of perinatal exposure to ethinyl oestradiol or a mixture of endocrine disrupting pesticides on kisspeptin neurons in the rat hypothalamus. *Neurotoxicology* 2013 ; 37 : 154-62.

Ozden S, Catalgol B, Gezginci-Oktayoglu S, *et al.* Acute effects of methiocarb on oxidative damage and the protective effects of vitamin E and taurine in the liver and kidney of Wistar rats. *Toxicol Ind Health* 2013 ; 29 : 60-71.

Ozden S, Alpertunga B. Effects of methiocarb on lipid peroxidation and glutathione level in rat tissues. *Drug Chem Toxicol* 2010 ; 33 : 50-4.

Ozden S, Alpertunga B. Effects of methiocarb on lipid peroxidation in rat tissues. *Toxicol Lett* 2009 ; 189 : S208-S208.

Ozden S, Catalgol B, Gezginci-Oktayoglu S, *et al.* Methiocarb-induced oxidative damage following subacute exposure and the protective effects of vitamin E and taurine in rats. *Food Chem Toxicol* 2009 ; 47 : 1676-84.

Padilla S, Marshall RS, Hunter DL, *et al.* Time course of cholinesterase inhibition in adult rats treated acutely with carbaryl, carbofuran, formetanate, methomyl, methiocarb, oxamyl or propoxur. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007 ; 219 : 202-9.

Pena-Contreras Z, Miranda-Contreras L, Morales-Ovalles Y, *et al.* Atrazine and mancozeb induce excitotoxicity and cytotoxicity in primary cultures of mouse cerebellar cortex. *Toxicol Environ Chem* 2016 ; 98 : 959-76.

Piel C, Pouchieu C, Carles C, *et al.* Agricultural exposures to carbamate herbicides and fungicides and central nervous system tumour incidence in the cohort AGRICAN. *Environ Int* 2019a ; 130 : 104876.

Piel C, Pouchieu C, Migault L, *et al.* Increased risk of central nervous system tumours with carbamate insecticide use in the prospective cohort AGRICAN. *Int J Epidemiol* 2019b ; 48 : 512-26.

Piel C, Pouchieu C, Tual S, *et al.* Central nervous system tumors and agricultural exposures in the prospective cohort AGRICAN. *Int J Cancer* 2017 ; 141 : 1771-82.

Pouchieu C, Gruber A, Berteaud E, *et al.* Increasing incidence of central nervous system (CNS) tumors (2000-2012): findings from a population based registry in Gironde (France). *BMC Cancer* 2018a ; 18 : 653.

Pouchieu C, Piel C, Carles C, *et al.* Pesticide use in agriculture and Parkinson's disease in the AGRICAN cohort study. *Int J Epidemiol* 2018b ; 47 : 299-310.

Preston-Martin S, Lewis S, Winkelmann R, *et al.* Descriptive epidemiology of primary cancer of the brain, cranial nerves, and cranial meninges in New Zealand, 1948-88. *Cancer Causes Control* 1993 ; 4 : 529-38.

Provost D, Cantagrel A, Lebailly P, *et al.* Brain tumours and exposure to pesticides: a case-control study in southwestern France. *Occup Environ Med* 2007 ; 64 : 509-14.

Rasgele PG. Abnormal sperm morphology in mouse germ cells after short-term exposures to acetamiprid, propineb, and their mixture. *Arh Hig Rada Toksikol* 2014 ; 65 : 47-56.

Rasgele PG, Muranli FDG, Kekecoglu M. Assessment of the genotoxicity of propineb in mice bone marrow cells using micronucleus assay. *Tsitol Genet* 2014 ; 48 : 233-7.

Reif JS, Pearce N, Fraser J. Occupational risks for brain cancer: a New Zealand Cancer Registry-based study. *J Occup Med* 1989 ; 31 : 863-7.

Rodvall Y, Ahlbom A, Spännare B, *et al.* Glioma and occupational exposure in Sweden, a case-control study. *Occup Environ Med* 1996 ; 53 : 526-32.

Roede JR, Jones DP. Thiol-reactivity of the fungicide maneb. *Redox Biol* 2014 ; 2 : 651-5.

Roede JR, Hansen JM, Go Y-M, *et al.* Maneb and paraquat-mediated neurotoxicity: involvement of peroxiredoxin/thioredoxin system. *Toxicol Sci* 2011 ; 121 : 368-75.

Rolandi A, Marinis E de, Caterina M de. Dithiocarbamate pesticides: activity of Propineb in the micronucleus test in mice. *Mutat Res* 1984 ; 135 : 193-7.

Roux F, Treich I, Fournier E. Different levels of changes induced by the insecticide lindane in cultured C-6 glioma cells. *Toxicology* 1980 ; 17 : 261-4.

Ruder AM, Carreón T, Butler MA, *et al.* Exposure to farm crops, livestock, and farm tasks and risk of glioma: the Upper Midwest Health Study. *Am J Epidemiol* 2009 ; 169 : 1479-91.

Ruder AM, Waters MA, Carreón T, *et al.* The Upper Midwest Health Study: a case-control study of primary intracranial gliomas in farm and rural residents. *J Agric Saf Health* 2006 ; 12 : 255-74.

Ruder AM, Waters MA, Butler MA, *et al.* Gliomas and farm pesticide exposure in men: the Upper Midwest Health Study. *Arch Environ Health* 2004 ; 59 : 650-7.

Sachana M, Flaskos J, Sidiropoulou E, *et al.* Inhibition of extension outgrowth in differentiating rat C6 glioma cells by chlorpyrifos and chlorpyrifos oxon: effects on microtubule proteins. *Toxicol In Vitro* 2008 ; 22 : 1387-91.

Salerno C, Carcagni A, Sacco S, *et al.* An Italian population-based case-control study on the association between farming and cancer: Are pesticides a plausible risk factor? *Arch Environ Occup Health* 2016 ; 71 : 147-56.

Samanic CM, de Roos AJ, Stewart PA, *et al.* Occupational exposure to pesticides and risk of adult brain tumors. *Am J Epidemiol* 2008 ; 167 : 976-85.

Santovito A, Cervella P, Delpero M. Chromosomal aberrations in cultured human lymphocytes treated with the fungicide, Thiram. *Drug Chem Toxicol* 2012 ; 35 : 347-51.

Satpal, Jain SK, Punia JS. Studies on biochemical changes in subacute thiodicarb toxicity in rats. *Toxicol Int* 2010 ; 17 : 30-2.

Scarabelli L, Giannoni P, Malfatto C, *et al.* Relationship between poly(ADP-ribose) polymerase activity and DNA damage induced by zinc dithiocarbamates in mouse and rat liver. *Mutat Res* 1993 ; 302 : 1-6.

Schmuck G, Mihail F. Effects of the carbamates fenoxycarb, propamocarb and propoxur on energy supply, glucose utilization and SH-groups in neurons. *Arch Toxicol* 2004 ; 78 : 330-7. •

Schmuck G, Ahr H-J, Mihail F, *et al.* Effects of the dithiocarbamate fungicide propineb in primary neuronal cell cultures and skeletal muscle cells of the rat. *Arch Toxicol* 2002 ; 76 : 414-22. •

Shukla Y, Baqar SM, Mehrotra NK. Carcinogenic and co-carcinogenic studies of thiram on mouse skin. *Food Chem Toxicol* 1996 ; 34 : 283-9.

Silver SR, Bertke SJ, Hines CJ, *et al.* Cancer incidence and metolachlor use in the Agricultural Health Study: An update. *Int J Cancer* 2015 ; 137 : 2630-43.

Singhal NK, Chauhan AK, Jain SK, *et al*. Silymarin- and melatonin-mediated changes in the expression of selected genes in pesticides-induced Parkinsonism. *Mol Cell Biochem* 2013 ; 384 : 47-58.

Skandrani D, Gaubin Y, Vincent C, *et al*. Relationship between toxicity of selected insecticides and expression of stress proteins (HSP, GRP) in cultured human cells: Effects of commercial formulations versus pure active molecules. *Biochim Biophys Acta* 2006 ; 1760 : 95-103.

Soleo L, Defazio G, Scarselli R, *et al*. Toxicity of fungicides containing ethylene-bis-dithiocarbamate in serumless dissociated mesencephalic-striatal primary coculture. *Arch Toxicol* 1996 ; 70 : 678-82.

Soloneski S, Gonzalez M, Piaggio E, *et al*. Effect of the dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation azzurro. I. Genotoxic evaluation on cultured human lymphocytes exposed in vitro. *Mutagenesis* 2001 ; 16 : 487-93.

Spirhanzlova P, Groef B de, Nicholson FE, *et al*. Using short-term bioassays to evaluate the endocrine disrupting capacity of the pesticides linuron and fenoxycarb. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2017 ; 200 : 52-8.

Srivastava MK, Raizada RB, Dikshith TSS. Assessment of fetotoxic and teratogenic effect of chlorpropham in albino-rats. *National Academy Science Letters-India* 1992 ; 15 : 131-3.

Su Y, Li H, Chen X, *et al*. Ziram inhibits rat neurosteroidogenic 5alpha-reductase 1 and 3alpha-hydroxysteroid dehydrogenase. *Toxicol Mech Methods* 2018 ; 28 : 38-44.

Takahashi S, Chi XJ, Nomura J, *et al*. A novel method of analyzing environmental chemical mutagens in human cell systems. *Water Sci Technol* 2000 ; 42 : 133-8.

Tanaka T. Reproductive and neurobehavioural toxicity study of chlorpropham in mice. *Food Addit Contam* 1999 ; 16 : 173-80.

Tanaka T, Fujitani T, Takahashi O, *et al*. Developmental toxicity of chlorpropham in mice. *Reprod Toxicol* 1997 ; 11 : 697-701.

Tanaka T. Reproductive and neurobehavioral effects of chlorpropham administered to mice in the diet. *Toxicol Ind Health* 1997 ; 13 : 715-26.

Tange S, Fujimoto N, Uramaru N, *et al*. In vitro metabolism of methiocarb and carbaryl in rats, and its effect on their estrogenic and antiandrogenic activities. *Environ Toxicol Pharmacol* 2016 ; 41 : 289-97.

Taylor TR, Whalen MM. Ziram activates mitogen-activated protein kinases and decreases cytolytic protein levels in human natural killer cells. *Toxicol Mech Methods* 2011 ; 21 : 577-84.

Taylor TR, Whalen MM. Effects of ziram on tumor-cell-binding capacity, cell-surface marker expression, and ATP levels of human natural killer cells. *Cell Biol Toxicol* 2009 ; 25 : 447-55.

Taylor TR, Tucker T, Whalen MM. Persistent inhibition of human natural killer cell function by ziram and pentachlorophenol. *Environ Toxicol* 2005 ; 20 : 418-24.

Thiruchelvam M, Richfield EK, Goodman BM, *et al.* Developmental exposure to the pesticides paraquat and maneb and the Parkinson's disease phenotype. *Neurotoxicology* 2002 ; 23 : 621-33.

Thrash B, Uthayathas S, Karuppagounder SS, *et al.* Paraquat and maneb induced neurotoxicity. *Proc West Pharmacol Soc* 2007 ; 50 : 31-42.

Tripathy NK, Dey L, Majhi B, *et al.* Genotoxicity of zineb detected through the somatic and germ-line mosaic assays and the sex-linked recessive-lethal test in Drosophila melanogaster. *Mutat Res* 1988 ; 206 : 25-31.

Tsang MM, Trombetta LD. The protective role of chelators and antioxidants on mancozeb-induced toxicity in rat hippocampal astrocytes. *Toxicol Ind Health* 2007 ; 23 : 459-70.

Viviani B, Bartesaghi S, Binaglia M, *et al.* Dithiocarbamate propineb induces acetylcholine release through cytoskeletal actin depolymerization in PC12 cells. *Toxicol Lett* 2008 ; 182 : 63-8.

Wang A, Costello S, Cockburn M, *et al.* Parkinson's disease risk from ambient exposure to pesticides. *Eur J Epidemiol* 2011 ; 26 : 547-55.

Wang X-F, Li S, Chou AP, *et al.* Inhibitory effects of pesticides on proteasome activity: Implication in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2006 ; 23 : 198-205.

Whalen MM, Loganathan BG, Yamashita N, *et al.* Immunomodulation of human natural killer cell cytotoxic function by triazine and carbamate pesticides. *Chem Biol Interact* 2003 ; 145 : 311-9.

Williams C-A, Lin Y, Maynard A, *et al.* Involvement of NF kappa B in potentiated effect of Mn-containing dithiocarbamates on MPP(+) induced cell death. *Cell Mol Neurobiol* 2013 ; 33 : 815-23.

Wilson S, Dzon L, Reed A, *et al.* Effects of in vitro exposure to low levels of organotin and carbamate pesticides on human natural killer cell cytotoxic function. *Environ Toxicol* 2004 ; 19 : 554-63.

Yiin JH, Ruder AM, Stewart PA, *et al.* The Upper Midwest Health Study: a case-control study of pesticide applicators and risk of glioma. *Environ Health* 2012 ; 11 : 39.

Yi MQ, Liu HX, Shi XY, *et al.* Inhibitory effects of four carbamate insecticides on acetylcholinesterase of male and female Carassius auratus in vitro. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2006 ; 143 : 113-6.

Zhang J, Fitsanakis VA, Gu G, *et al.* Manganese ethylene-bis-dithiocarbamate and selective dopaminergic neurodegeneration in rat: a link through mitochondrial dysfunction. *J Neurochem* 2003 ; 84 : 336-46.

Zhang R, Pan Z, Wang X, *et al.* Short-term propamocarb exposure induces hepatic metabolism disorder associated with gut microbiota dysbiosis in adult male zebrafish. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2019 ; 51 : 88-96.

Zilkah S, Osband ME, McCaffrey R. Effect of inhibitors of plant cell division on mammalian tumor cells in vitro. *Cancer Res* 1981 ; 41 : 1879-83.

11
Hémopathies malignes

Les hémopathies malignes sont des tumeurs atteignant les tissus hématopoïétiques, comme la moëlle osseuse ou les tissus lymphoïdes (ganglions, rate...). Il s'agit de proliférations monoclonales qui se développent à partir des cellules sanguines ou du système immunitaire à différents stades de leur maturation. On distingue d'abord les leucémies, qui sont des « tumeurs liquides » dans le sang, et dérivent de la transformation d'un précurseur hématopoïétique dans la moelle osseuse ou d'une cellule hématopoïétique mature dans le sang. Les leucémies peuvent être lymphoïdes ou myéloïdes, aiguës ou chroniques. Concernant les lymphomes, un lymphocyte transformé dans un tissu lymphoïde secondaire génère le plus souvent une maladie se présentant cliniquement comme une tumeur solide. Les lymphomes sont classés en lymphome de Hodgkin (LH) ou en lymphome non hodgkinien (LNH) dont les sous-types sont nombreux.

Ce chapitre fait une mise à jour de la littérature épidémiologique publiée depuis la publication de l'expertise collective de l'Inserm réalisée en 2013 (Inserm, 2013) en rappelant ces données de 2013 pour chacun des grands types d'hémopathies malignes en reprenant en détails les données par substances actives et en mettant en évidence les évolutions depuis 2013. Un chapitre complet a été consacré aux mécanismes d'action des pesticides dans les hémopathies dans la précédente expertise et seuls quelques éléments de toxicologie seront abordés pour des substances actives particulières.

Hémopathies malignes : classification, incidence, mortalité et facteurs de risque

Historiquement, ces maladies étaient regroupées en quatre ou cinq catégories : le lymphome de Hodgkin, les lymphomes non hodgkiniens, le myélome multiple et les leucémies aiguës et chroniques. Cependant, les progrès réalisés dans la compréhension des hémopathies malignes ont entraîné de nombreux changements dans la façon dont ces maladies étaient classées, diagnostiquées et traitées. En 2001, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a produit

une nouvelle classification consensuelle qui définit les tumeurs malignes hématologiques en fonction de leur lignée cellulaire, des anomalies génétiques et des caractéristiques cliniques. Cette classification, mise à jour en 2008 puis en 2016 (Swerdlow et coll., 2008 ; Swerdlow et coll., 2017), a été uniformément adoptée dans la pratique clinique et est incorporée dans la Classification internationale des maladies pour l'oncologie (CIM-O-3). La distinction des entités sur la base des caractéristiques morphologiques, phénotypiques, génotypiques, et cliniques reflète donc un changement de paradigme dans l'approche de la classification des hémopathies malignes. Aujourd'hui, les hémopathies malignes rassemblent plus de 160 maladies différentes du point de vue de leurs caractéristiques épidémiologiques, biologiques, cliniques ou pronostiques. Bien que le maintien des regroupements d'origine soit utile pour les comparaisons historiques, les statistiques descriptives contemporaines produisent, au moins dans les pays occidentaux, des données épidémiologiques détaillées par sous-types, pour refléter l'état actuel des connaissances. C'est pourquoi l'incidence des hémopathies malignes en France métropolitaine en 2018, résumée dans cette introduction, prend en compte les nouvelles définitions et décrit les principaux sous-types.

En revanche, la recherche portant sur les facteurs de risque a pris plus tardivement en compte cette distinction des hémopathies malignes et de ses sous-types. La première raison évidente vient du fait qu'une grande part des études étiologiques menées sur les hémopathies malignes incluait des cas anciens, dans des études réalisées durant les années 1980 et 1990, utilisant donc des classifications anciennes. La seconde raison à l'utilisation tardive de cette distinction par sous-type vient du fait que certaines entités sont rares et n'ont pu faire l'objet d'étude spécifique (jusqu'à la formation d'un consortium scientifique comme *InterLymph*[26]). Dans ce chapitre, nous avons décidé de garder la structure en quatre groupes de l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013 (lymphomes non hodgkiniens, myélome multiple, lymphome de Hodgkin et leucémie). En effet, cela permet au lecteur de se repérer et de comparer les nouvelles données épidémiologiques avec celles de la précédente expertise collective Inserm. D'autre part, il faut convenir du fait que la majorité des études publiées jusqu'à aujourd'hui sur le lien entre l'exposition aux pesticides et le risque de survenue d'une hémopathie maligne ont utilisé ces définitions historiques en quatre grands groupes nosologiques. Les chercheurs publient néanmoins depuis plusieurs années leurs résultats en tenant compte des dernières classifications et en incluant des analyses pour les sous-types les plus fréquents d'hémopathies malignes. Dans chaque chapitre, ces nouvelles données sont mentionnées lorsqu'elles

26. https://epi.grants.cancer.gov/InterLymph/ [consulté le 29 octobre 2020]

émergent dans la littérature récente. Certaines catégories d'hémopathies malignes n'ont cependant pas pu être abordées, comme les syndromes myélodysplasiques ou les syndromes myéloprolifératifs chroniques, car les données sont rares ou insuffisantes. Ces entités pourront être considérées dans une prochaine édition si le niveau de connaissance s'améliore concernant leur éventuel lien avec l'exposition aux pesticides.

Incidence et mortalité des hémopathies malignes

En 2018, on estimait à 1 190 000 le nombre de nouveaux cas d'hémopathies malignes diagnostiqués dans le monde (soit 6 % des cancers), tandis que 690 000 patients sont décédés de ces maladies la même année (Ferlay et coll., 2019). En France métropolitaine, la même année, le nombre de nouveaux cas d'hémopathies malignes est estimé à 45 000 (25 000 chez l'homme et 20 000 chez la femme), représentant près de 12 % de l'ensemble des nouveaux cas de cancer (Defossez et coll., 2019).

Environ deux tiers des cas sont des hémopathies lymphoïdes (lymphome de Hodgkin et lymphomes non hodgkiniens). Les taux d'incidence standardisés sur la structure d'âge de la population mondiale (TSM) varient selon le type d'hémopathie maligne et le sexe (tableau 11.I). Les hémopathies malignes sont plus fréquentes chez l'homme sauf pour la thrombocytémie essentielle. Les cinq entités les plus fréquentes sont le myélome multiple/plasmocytome (5 442 nouveaux cas), le lymphome diffus à grandes cellules B (5 071), les syndromes myélodysplasiques (4 735), la leucémie lymphoïde chronique (LLC)/lymphome lymphocytique (4 674) et les leucémies aiguës myéloïdes (3 428). Ces cinq maladies représentent 53 % de la totalité des nouveaux cas d'hémopathies malignes en 2018.

Tendances temporelles de l'incidence

L'analyse des tendances temporelles de l'incidence par type d'hémopathies malignes permet de distinguer cinq maladies hématologiques, représentant près de la moitié des nouveaux cas, dont la variation annuelle moyenne du taux d'incidence (TSM) augmente de 1 % ou plus chez l'homme et la femme : le lymphome de Hodgkin et les leucémies aiguës myéloïdes (étudiés sur la période 1990-2018), mais aussi le lymphome folliculaire, le lymphome diffus à grandes cellules B et le myélome multiple/plasmocytome (étudiés sur la période 1995-2018). Pour ces 5 localisations, le nombre de nouveaux cas augmente sur la période 1990-2018 chez l'homme et la femme, respectivement de +50 % et +64 % pour le lymphome de Hodgkin, de +114 % et

Tableau 11.I : Nombre de cas incidents estimés, taux d'incidence standardisé monde en 2018 en France métropolitaine et tendances évolutives de l'incidence par type d'hémopathie maligne (d'après Defossez et coll., 2019)

	Nombre de cas incidents estimés en France			Taux d'incidence standardisé[1] en France en 2018		Variation annuelle moyenne[2] (% [IC 95 %])				
	Total	Homme	Femme	Homme	Femme	Début de période d'étude	Homme		Femme	
Lymphome de Hodgkin	2 127	1 240	887	3,7	2,7	1990	1,2	[0,7-1,6]	1,7	[1,2-2,2]
Lymphomes non hodgkiniens										
LLC/Lymphome lymphocytique	4 674	2 770	1 904	4,0	2,1	1990	0,0	[-0,3-0,3]	-0,1	[-0,4-0,3]
Lymphome folliculaire	3 066	1 658	1 408	2,9	2,0	1995	2,8	[2,2-3,4]	1,8	[1,1-2,5]
Lymphome diffus à grandes cellules B	5 071	2 778	2 293	4,7	3,2	1995	1,1	[0,7-1,5]	1,5	[0,9-2,0]
Lymphome à cellules du manteau	887	673	214	1,0	0,2	2003	2,2	[0,7-3,8]	0,0	[NC]
Lymphome de Burkitt	220	149	71	0,5	0,2	1995	0,0	[-1,6-1,2]	0,0	[NC]
Lymphome de la zone marginale	2 790	1 457	1 333	2,3	1,7	2003	4,7	[3,4-5,9]	4,5	[0,3-5,9]
Myélome multiple/plasmocytome	5 442	2 822	2 620	4,2	2,9	1995	1,1	[0,7-1,5]	0,6	[0,1-1,0]
LLP/ M. de Waldenström	1 317	892	425	1,2	0,5	1995	-2,0	[-2,4 ;-1,0]	-1,7	[-2,5 ;-0,8]
Leucémie à tricholeucocytes	304	243	61	0,5	0,1	1990	1,2	[0,2-2,3]	0,0	[NC]
Lymphome T/NK à cellules matures (LNH T)	1 777	997	780	1,8	1,3	2003	0,0	[NC]	2,0	[0,6-3,4]
Leucémie/lymphome lymphoblastique à cellules précurseurs (B, T ou SAI)	900	517	383	2,0	1,5	1995	0,0	[NC]	0,0	[NC]
Leucémie aiguë myéloïde	3 428	1 787	1 641	3,1	2,3	1990	1,2	[0,8-1,6]	0,9	[0,5-1,4]
Leucémie aiguë myéloïde promyélocytaire	228	146	82	0,3	0,2		3,7	[0,2-7,3]	0,0	[NC]
Syndromes myéloprolifératifs chroniques										
Leucémie myéloïde chronique (LMC)	872	480	392	1,0	0,7	1990	-1,0	[-1,3 ;-0,1]	0,0	[NC]
Myélofibrose	520	273	247	0,4	0,3	2003	0,0	[NC]	4,0	[0,8-7,3]
Polyglobulie de Vaquez	1 129	603	526	1	0,6	2003	0	[NC]	1,7	[0,0-3,4]
Thrombocytémie essentielle	2 057	862	1 195	1,4	1,5	2003	0,7	[-0,7 ;2,1]	1,1	[-0,2-2,5]
Syndromes myélodysplasiques	4 735	2 894	1 841	3,4	1,6	2003	0,7	[0,0-1,5]	0,5	[-0,3-1,4]

[1] : taux d'incidence standardisés sur la population mondiale et exprimés pour 100 000 personnes-années ; [2] : variation annuelle moyenne du taux d'incidence entre l'année indiquée dans la colonne « début de période d'étude » et 2018 ; LLC : leucémie lymphoïde chronique ; LLP : lymphome lymphoplasmocytaire ; SMM : syndromes myéloplasiques myéloprolifératifs

+115 % pour les leucémies aiguës myéloïdes ; sur la période 1995-2018, de +181 % et +130 % pour le lymphome folliculaire, de +86 % et +82 % pour le lymphome diffus à grandes cellules B et de +96 % et +74 % pour le myélome multiple/plasmocytome (Defossez et coll., 2019). Pour ces cinq localisations hématologiques, on estime que 30 à 60 % de la hausse observée est due à l'accroissement et au vieillissement de la population tandis que 40 à 70 % serait due à une augmentation du risque de ces maladies dont les causes sont à étudier.

En revanche, les taux d'incidence stagnent ou diminuent pour trois hémopathies malignes : la LLC/lymphome lymphocytique et la leucémie myéloïde chronique, le lymphome lymphoplasmocytaire/macroglobulinémie de Waldenström. Certaines tendances d'hémopathies malignes rares n'ont pu être estimées du fait d'effectifs trop faibles.

Survie

Depuis une quinzaine d'années, de nombreuses innovations thérapeutiques ont marqué le traitement des hémopathies malignes. Ces innovations ont un impact sur la survie des patients atteints d'hémopathies malignes, estimée dans la population générale. La dernière estimation de la survie des hémopathies malignes réalisée en France à partir des données des registres de cancer a été publiée en 2016 (Monnereau et coll., 2016 ; mise à jour en cours qui sera publiée en 2021). L'étude portait sur 35 520 cas incidents d'hémopathies malignes diagnostiqués entre 1989 et 2010 et suivis jusqu'au 30 juin 2013 (16 hémopathies malignes les plus fréquentes). La survie nette à 5 ans est très hétérogène entre types et sous-types d'hémopathies malignes : 21 % pour les leucémies aiguës myéloïdes, 85 à 90 % pour certains lymphomes (folliculaire, de Hodgkin) ou pour la leucémie myéloïde chronique. Les hémopathies malignes de bon pronostic (taux de survie nette à 5 ans de 75 % ou plus) représentent près de 45 % des nouveaux cas d'hémopathies malignes incidents tandis que 10 % des nouveaux cas (principalement les leucémies aiguës myéloïdes) ont toujours un pronostic défavorable (taux de survie nette à 5 ans inférieur à 30 %). L'amélioration de la survie nette au cours du temps était clairement observée pour la leucémie myéloïde chronique (+34 points entre 1989 et 2010), le lymphome folliculaire (+18 points entre 1995 et 2010) et le lymphome diffus à grandes cellules B (+18 points entre 1995 et 2010) (Monnereau et coll., 2016). Pour les autres, on observe une amélioration plus faible de la survie à 5 ans (myélome multiple/plasmocytome : tendance à l'amélioration uniquement chez les patients de moins de 65 ans ; LLC/lymphome lymphocytique progression de 8 points). Pour les

autres localisations hématologiques étudiées, la survie s'améliore globalement peu mais plus significativement chez les sujets jeunes comme pour les leucémies aiguës myéloïdes ou la leucémie/lymphome lymphoblastique. La survie du lymphome de Hodgkin reste stable. Ces résultats encourageants concernant la survie des hémopathies malignes sont également observés au niveau européen (de Angelis et coll., 2015), avec des taux de survie en France meilleurs que dans la plupart des autres pays pour la majorité des hémopathies malignes. Néanmoins, les données de mortalité révèlent que les hémopathies malignes (considérées dans leur ensemble) sont toujours au troisième rang des cancers les plus graves dans notre pays (Ferlay et coll., 2018). Les hémopathies malignes nécessitent des traitements lourds pour le patient (chimiothérapie intensive et greffe de moëlle osseuse) et pour la société (coût élevé des thérapies ciblées).

Facteurs de risque

Les facteurs de risque avérés des hémopathies malignes n'expliquent qu'une faible proportion des nouveaux cas diagnostiqués. Leur étiologie reste donc globalement en grande partie inconnue.

On peut citer d'abord les agrégations familiales de différents types d'hémopathies malignes, en particulier dans la leucémie lymphoïde chronique et les lymphomes. D'autre part les maladies héréditaires comme l'ataxie télangiectasie, le syndrome de Bloom, l'anémie de Fanconi, le syndrome de Li-Fraumeni et la neurofibromatose de type 1 sont des facteurs de risque avérés de magnitude élevée, mais ces facteurs familiaux ne sont à même d'expliquer qu'une très faible proportion des nouveaux cas car ces maladies héréditaires sont très rares.

Les facteurs de risque répertoriés comme cancérogènes certains (groupe 1)[27] par le Centre international de recherche sur le cancer (Circ) pour les leucémies sont les suivants : le tabagisme, l'exposition au benzène, aux radiations ionisantes à forte dose et aux chimiothérapies anticancéreuses (alkylants et inhibiteurs des topo-II-isomérases). Les travailleurs du caoutchouc sont également à risque.

Les facteurs de risque reconnus des LNH sont les déficits immunitaires primitifs, l'infection par le VIH, les greffes d'organes (traitement immunosuppresseur), les agents infectieux tels que *Helicobacter pylori*, le virus de l'hépatite C, le virus Epstein-Barr (avec ou sans VIH) ou le virus lymphotrope

27. https://monographs.iarc.fr/fr/agents-classes-par-les-monographies-du-circ-2/ [consulté le 29 octobre 2020]

humain T-HTLV-1, les maladies auto-immunes telles que le syndrome de Sjögren et le lupus érythémateux disséminé, les antécédents familiaux et personnels d'hémopathies malignes. Les agents chimiques cancérogènes certains (groupe 1) classés par le Circ pour les LNH sont les suivants : l'exposition au benzène, à la dioxine, l'oxyde d'éthylène, et au lindane (pesticide organochloré). Les travailleurs du caoutchouc sont également à risque.

La connaissance des facteurs de risque des hémopathies lymphoïdes a progressé ces quinze dernières années sous l'impulsion d'initiatives internationales comme celles portées par le consortium *InterLymph*. Une des plus ambitieuses posait la question de savoir si les spécificités biologiques et cliniques de chaque sous-type de lymphome se traduisaient par des différences étiologiques ? Ainsi, un large panel de facteurs de risque potentiels a été étudié simultanément (antécédents familiaux d'hémopathies malignes, maladies auto-immunes, expositions professionnelles, consommation de tabac et d'alcool, facteurs hormonaux, exposition au soleil...) pour une douzaine de sous-types de lymphomes, incluant plus de 17 000 cas et 23 000 témoins (Morton et coll., 2014b) : des profils étiologiques ont pu être établis confirmant, sur un fond commun, une grande hétérogénéité entre les différents sous-types histologiques d'hémopathies (Morton et coll., 2014a). On peut ainsi distinguer deux grands profils étiologiques différents : les LNH associés avec des facteurs de risque reliés à l'immunité (LNH diffus à grandes cellules B, LNH de la zone marginale, LNH lymphoplasmocytaire...) et ceux pour lesquels peu de facteurs de risque sont identifiés mais qui seraient plutôt associés à des polymorphismes génétiques comme le montrent les études d'association pangénomiques (LNH folliculaire, LLC/LL, LNH à cellules du manteau).

Ainsi, le fait que la majorité des facteurs de risque démontre une hétérogénéité dans leur association avec les sous-types de lymphomes n'exclut pas que plusieurs hémopathies puissent partager des facteurs de risque, notamment environnementaux.

En 2015, une monographie du Circ évalue la carcinogénicité de plusieurs substances actives de pesticides (IARC, 2017) dont le glyphosate classé « cancérogène probable » (voir chapitre « Glyphosate et formulations à base de glyphosate »). En juin de la même année, un tableau de reconnaissance en maladie professionnelle a été créé (n° 59 du régime agricole). Il est intitulé « Hémopathies malignes provoquées par les pesticides » et porte sur les lymphomes non hodgkiniens et l'exposition professionnelle aux pesticides (Lasfargues, 2017 ; INRS, 2019).

Lymphomes non hodgkiniens

Les lymphomes non hodgkiniens (LNH) sont des proliférations monoclonales de lymphocytes à différents stades de leur différenciation. À bien des égards, les différents types de LNH semblent récapituler les étapes de différenciation normale des lymphocytes B ou T, et dans une certaine mesure, ils peuvent être classés selon la cellule normale correspondante. Cependant, ce n'est pas systématiquement le cas et la contrepartie normale de la cellule tumorale ne peut pas être la seule base de classification. La classification OMS distingue les types de LNH sur la base de caractéristiques morphologiques et immunologiques (Swerdlow et coll., 2017). Le stade de différenciation, la morphologie et les caractéristiques phénotypiques, génotypiques, et cliniques sont également utilisés pour distinguer les différents sous-types de LNH. Les LNH regroupent donc de nombreuses entités nosologiques différentes de par leur physiopathologie, leur diagnostic histologique, leur biologie et leur pronostic.

Les LNH représentent 60 % des hémopathies malignes avec environ 27 000 nouveaux cas en 2018 en France métropolitaine. Les TSM sont respectivement de 25,5 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 16,1 chez la femme (Le Guyader-Peyrou et coll., 2019). L'évolution du nombre de cas entre 1990 et 2018 est de 123 % chez l'homme (7 000 à 15 500 cas incidents) et 109 % chez la femme (5 800 à 12 100 cas incidents) dont la moitié correspond aux changements démographiques (augmentation et vieillissement de la population) et l'autre moitié correspond à une augmentation de risque. Les variations annuelles moyennes des TSM sont de 1 % entre 1990 et 2018 chez l'homme et la femme. Les tendances évolutives de l'incidence varient selon le sous-type histologique de LNH mais la majorité d'entre eux ont une évolution à la hausse.

Les principaux sous-types de LNH sont le lymphome diffus à grandes cellules B (respectivement 4,7 et 3,2 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et la femme en 2018 en France ; 5 071 nouveaux cas en 2018), le lymphome folliculaire (respectivement 2,9 et 2,0 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et la femme en 2018 en France ; 3 066 nouveaux cas en 2018), le lymphome de la zone marginale (respectivement 2,3 et 1,7 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et la femme en 2018 en France ; 2 790 nouveaux cas en 2018) (Le Guyader-Peyrou et coll., 2019). Ces trois hémopathies lymphoïdes ont une incidence qui augmente depuis les années 1990. À noter que le myélome multiple fait partie des hémopathies lymphoïdes les plus fréquentes. Il est aujourd'hui regroupé avec les LNH mais sera traité dans une partie spécifique, de même que la leucémie lymphoïde

chronique regroupée aujourd'hui avec le lymphome lymphocytique (LLC/LL) en une seule entité qui sera traitée dans la partie consacrée aux leucémies. Ces cinq maladies représentent 80 % des nouveaux cas de LNH diagnostiqués chaque année en France.

Résumé de l'expertise collective Inserm de 2013

Un grand nombre d'enquêtes épidémiologiques a étudié la relation entre une exposition professionnelle, mais aussi domestique, aux pesticides et le risque de développer un LNH.

Parmi elles, sept méta-analyses ont rapporté une augmentation du risque de survenue de LNH allant de 3 à 98 % chez les professionnels exposés aux pesticides comparés à la population générale. L'augmentation de risque était statistiquement significative dans cinq méta-analyses. Pour deux méta-analyses, l'une étant une mise à jour des résultats de l'autre, il n'y avait pas de significativité statistique. L'association significative la plus élevée était observée pour les travailleurs en industrie de production de pesticides avec un excès de risque de survenue de LNH de 98 %.

Les données de la cohorte prospective *Agricultural Health Study* (AHS) menée aux États-Unis, dans les États de l'Iowa et de la Caroline du Nord (50 000 exploitants agricoles et près de 5 000 applicateurs professionnels de pesticides) montraient une sur-incidence et une surmortalité par LNH chez les exploitants agricoles applicateurs de pesticides ou chez les applicateurs professionnels, et chez leurs conjoints, exposés aux pesticides en comparaison avec la population générale (ratios standardisés d'incidence ou de mortalité). L'excès de risque serait limité aux lymphomes à cellules B.

C'est ainsi qu'à partir des données disponibles en 2013, l'expertise collective Inserm de 2013 (Inserm, 2013) avait conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition aux pesticides, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, chez les agriculteurs, chez les applicateurs de pesticides et chez les ouvriers de l'industrie de production de pesticides, et le risque de survenue de LNH.

Plus spécifiquement, des associations entre LNH et familles ou substances actives de pesticides ont également été recherchées. La majorité des résultats par substances actives est issue de la cohorte américaine citée ci-dessus (AHS), malgré les limites que l'on peut résumer ainsi : *i*) la sélection des 50 pesticides analysés (essentiellement des insecticides ou des herbicides) reflète les spécificités agricoles des deux États inclus dévolues largement aux grandes cultures et aux élevages, *ii*) les personnes exposées aux pesticides

sont essentiellement des hommes agriculteurs blancs dont les tâches majeures associées à l'exposition sont les traitements (absence de prise en compte des contacts indirects avec les substances notamment lors de tâches de ré-entrée dans les cultures), *iii*) l'identification des pesticides utilisés se fait uniquement sur la déclaration des personnes interrogées (proposition des noms des matières actives avec des exemples indicatifs de noms de spécialités commerciales).

Les familles et substances actives impliquées dans les excès de risque significatifs de survenue de LNH sont décrites dans des tableaux (voir addenda en fin de chapitre : tableau A11.I). Le niveau de présomption de lien a été formulé d'après les résultats de plusieurs études de cohortes ou d'au moins une étude de cohorte et deux cas-témoins ou de plus de deux études cas-témoins (noté « ++ » c'est-à-dire une présomption forte de lien), ou d'après les résultats d'une cohorte ou d'une étude cas-témoins nichée ou de deux études cas-témoins (noté « + »). Les substances actives comme le lindane, le DDT, le terbufos, le diazinon, le malathion, le butilate, le phénoxyherbicide 2,4-D ou le glyphosate étaient spécifiquement associées à un excès de risque significatif dans des populations de professionnels (agriculteurs, applicateurs, éleveurs, ouvriers en industrie de production).

Dans plusieurs autres situations, qui concernent les expositions à d'autres familles de pesticides ou substances actives, ou les expositions des populations professionnelles plus largement définies que celles des agriculteurs ou des populations exposées non professionnelles, la présomption de lien reposait sur une seule étude cas-témoins (niveau de présomption faible, noté « ± »).

Des éléments de preuves étaient également décrits concernant des populations particulières chez qui un risque accru de LNH était observé pour des expositions à des familles ou substances particulières de pesticides. Il s'agit en particulier des agriculteurs porteurs d'une translocation chromosomique t(14 ;18) mais aussi des agriculteurs présentant un antécédent d'asthme ou d'hémopathies malignes (voir addenda en fin de chapitre : tableau A11.II).

Aucun élément de preuve concernant une association spécifique entre une exposition aux pesticides et le risque de survenue d'un ou plusieurs sous-types histologiques de lymphome non hodgkinien n'était apporté lors de la précédente édition de l'expertise collective publiée en 2013.

Nouvelles données épidémiologiques

S'appuyant sur les résultats acquis ces dernières années montrant un lien entre l'exposition professionnelle aux pesticides (y compris certaines familles

ou substances actives) et la survenue de LNH, les études les plus récentes ont cherché à mettre en évidence un effet propre des substances actives et ce sont ces études qui font l'objet de l'analyse de ce chapitre. En effet, depuis la précédente édition de l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, de nombreuses études ont été publiées dont treize méta-analyses abordant l'exposition à plusieurs familles de substances actives ou se focalisant sur une famille ou une substance active particulière. Plusieurs résultats récents proviennent de cohortes, en particulier du consortium Agricoh, ainsi que d'études cas-témoins. Certaines de ces études apportent des résultats par sous-type de LNH (et/ou par substance active). Les résultats seront analysés dans une première partie par type d'études et dans une seconde partie seront synthétisés par familles et substances actives.

Analyse par type d'études

- ***Méta-analyses***

Une revue systématique de la littérature accompagnée d'une méta-analyse a été publiée en 2014 par le Circ (Schinasi et Leon, 2014). Celle-ci rapporte des estimations d'associations entre les LNH et les expositions professionnelles à 21 familles de pesticides et 80 substances actives extraites de 44 articles originaux. Les phénoxyherbicides, les carbamates, les insecticides organophosphorés et l'exposition au lindane sont associés positivement à la survenue de LNH. Les risques de LNH étaient associés positivement à des substances actives spécifiques avec une hétérogénéité faible ou modérée entre études pour : le dicamba mRR = 1,4 [1,0-2,1], le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) mRR = 1,3 [1,1-1,5], le carbaryl mRR = 1,7 [1,3-2,3], le carbofuran mRR = 1,6 [1,2-2,3], le diazinon mRR = 1,6 [1,2-2,2], le malathion mRR = 1,8 [1,4-2,2], le glyphosate mRR = 1,5 [1,1-2,0] et le lindane mRR = 1,6 [1,2-2,2]. Ces associations étaient robustes aux analyses de sensibilité évaluant l'effet du sexe, du type d'étude, de la période de diagnostic, de la région géographique, de la source des témoins pour les études cas-témoins. Cependant, aucun effet-dose n'est rapporté dans cette étude. Les associations entre les pesticides et les sous-types de LNH sont étudiées dans un petit nombre d'articles montrant néanmoins que les lymphomes à cellules B sont associés positivement à l'exposition aux phénoxyherbicides mRR = 1,8 [1,2-2,8], au glyphosate mRR = 2,0 [1,1-3,6] ou au DDT mRR = 1,4 [1,0-2,0] avec une absence d'hétérogénéité entre les résultats des études. De la même façon, le lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB) est positivement associé à l'exposition aux phénoxyherbicides mRR = 2,0 [1,1-3,6] à partir des données de deux études. Enfin, le lymphome

folliculaire est associé au DDT, mRR = 1,5 [1,0-2,4] avec une hétérogénéité modérée entre les résultats des études.

Une seconde méta-analyse, récemment publiée par le consortium des cohortes d'agriculteurs Agricoh (Leon et coll., 2019), étudie le rôle de l'exposition professionnelle (de façon binaire : oui/non) entre 14 familles de pesticides et 33 substances actives et le risque de LNH et de ses principaux sous-types. À partir des données de trois cohortes de travailleurs agricoles (États-Unis – AHS, France – AGRICAN et Norvège – CNAP [*Cancer in the Norwegian Agricultural Population*]), totalisant plus de 300 000 sujets, 2 430 cas et 3,5 millions de personnes-années à risque, les auteurs observent que la plupart des associations testées sont non significatives exceptées pour les LNH et le terbufos mRR = 1,2 [1,0-1,4], la leucémie lymphoïde chronique/lymphome lymphocytique et la deltaméthrine mRR = 1,5 [1,1-2,1] et le LDGCB et le glyphosate mRR = 1,4 [1,0-1,9], après ajustement sur les autres pesticides. Aucun élément d'hétérogénéité entre les résultats des trois cohortes n'est objectivé. Des associations inverses sont observées entre les LNH et la famille large des insecticides organochlorés mRR = 0,9 [0,7-1,0] ou les phénoxyherbicides mRR = 0,8 [0,7-1,0] sans distinction d'une matière active spécifique, après ajustement sur les autres pesticides. À partir des trois cohortes évoquées ci-dessus, une autre méta-analyse du consortium Agricoh (El-Zaemey et coll., 2019) examine le risque d'hémopathie maligne chez les éleveurs et ne montre aucune association avec les principaux sous-types de LNH à l'exception d'un risque significativement élevé de lymphome folliculaire chez les éleveurs de bovins dans une analyse de sensibilité prenant comme groupe de référence les agriculteurs n'ayant jamais élevé aucun bétail.

Entre 2013 et 2020, dix autres méta-analyses ou analyses « poolées » ont étudié le lien entre une famille spécifique de pesticides ou une substance active sur le risque de LNH, deux sur les organochlorés (Luo et coll., 2016 ; Kachuri et coll., 2020), une sur les organophosphorés (Hu et coll., 2017), une sur les insecticides carbamates et organophosphorés (Koutros et coll., 2019), trois sur le glyphosate (Chang et Delzell, 2016 ; Pahwa et coll., 2019 ; Zhang et coll., 2019), deux sur le phénoxyherbicide 2,4-D (Goodman et coll., 2015 ; Smith et coll., 2017) et une sur le pentachlorophénol (Zheng et coll., 2015).

La méta-analyse de Luo et coll. (2016) évalue quantitativement, grâce à des prélèvements biologiques, l'association entre l'exposition aux pesticides organochlorés et le risque de LNH à partir de treize études publiées entre 1997 et 2011 (6 études cas-témoins nichées, une étude de cas-cohorte et 6 études cas-témoins). Le risque de LNH tous organochlorés confondus pour les études incluses est de mOR = 1,4 [1,3-1,6]. Aucune hétérogénéité significative entre

les résultats n'est observée (I^2 = 12,6 %). En outre, les analyses par substance active montrent des associations positives entre le risque de LNH et les expositions au dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE, mOR = 1,4 [1,1-1,6]), à l'hexachlorocyclohexane (HCH, mOR = 1,4 [1,1-1,9]), au chlordane (mOR = 1,9 [1,5-2,5]) et à l'hexachlorobenzène (HCB, mOR = 1,5 [1,2-2,0]). En revanche aucune association n'est observée avec le DDT (voir paragraphe DDT ci-dessous).

La méta-analyse de Hu et coll. (2017) inclut cinq cohortes et cinq études cas-témoins dont une nichée dans une cohorte, publiées entre 1992 et 2015 ayant collecté des informations sur l'exposition à au moins un des trois pesticides organophosphorés suivants : malathion, diazinon, terbufos. Une augmentation statistiquement significative du risque de LNH est observée pour l'exposition à un des trois organophosphorés : mOR = 1,2 [1,0-1,4] avec une hétérogénéité modérée (I^2 = 41 %). Cette association est significative uniquement pour les études cas-témoins mOR = 1,4 [1,1-1,8] ou cas-témoins nichée mOR = 1,6 [1,0-2,4] et uniquement pour le diazinon mOR = 1,4 [1,1-1,7] avec une absence d'hétérogénéité inter-étude (I^2 = 0 %).

Deux études du *North American Pooled Project* (NAPP) examinent le rôle de l'exposition à des insecticides spécifiques (11 organophosphorés et 2 carbamates dans Koutros et coll., 2019, 10 organochlorés dans Kachuri et coll., 2020) sur le risque de LNH et ses principaux sous-types, au sein de trois études cas-témoins réalisées en population générale dans les années 1980 aux États-Unis et une étude cas-témoins canadienne publiée dans les années 1990. Dans la première étude, une association positive statistiquement significative est observée entre l'exposition au malathion et le risque de LNH OR = 1,4 [1,1-1,8] après ajustement mutuel sur les autres substances. Ce risque augmente avec une utilisation du malathion pendant 6 années ou plus, rapportée par les agriculteurs, en prenant pour référence les non-utilisateurs (OR = 1,6 [1,2-2,1] ; p de tendance < 0,01). De plus, l'évaluation du rôle du mélange de tous les insecticides organophosphorés et carbamates montre une association entre la durée d'exposition et le risque de LNH. L'augmentation d'une unité du score normalisé pondéré de l'ensemble des pesticides correspond à une augmentation de 38 % du risque de LNH ([18-61 %], p < 0,0001). Les cinq pesticides ayant le plus de poids dans cette somme normalisée pondérée sont le malathion, le carbaryl, le fonofos, le diazinon et le coumaphos. Après ajustement pour les autres pesticides étudiés, les auteurs observent également une association entre l'exposition au malathion et le LDGCB (OR = 1,6 [1,2-2,2]) et le lymphome folliculaire (OR = 1,6 [1,1-2,3]) avec une augmentation des risques avec la durée de l'exposition. Les risques pour

la plupart des autres substances sont élevés pour plusieurs sous-types de LNH mais sont atténués après ajustements mutuels.

Dans la seconde étude du NAPP (Kachuri et coll., 2020), des associations positives sont observées entre plusieurs substances actives organochlorées et différents sous-ensembles de LNH. On retient principalement le lindane (OR = 1,6 [1,2-2,1]) et le lymphome folliculaire (LF), le LDGCB, le lymphome lymphocytique ; le chlordane (OR = 1,6 [1,2-2,2]) et le LF, le lymphome lymphocytique ; le DDT (OR = 1,4 [1,1-1,7] et le LDGCB, le lymphome lymphocytique. Les associations spécifiques aux sous-types ont été évaluées en utilisant l'ASSET (*Association Analysis for SubSETs*), analyse d'association basée sur des sous-ensembles qui prend en compte plusieurs comparaisons entre les expositions et plusieurs recherches de sous-types de LNH pour chaque insecticide. Les valeurs des p de tendance indiquent une relation dose-réponse significative pour plusieurs insecticides : le lindane ($p = 1{,}7\times10^{-4}$), le chlordane ($p = 1{,}0\times10^{-3}$) et le DDT ($p = 4{,}2\times10^{-3}$). Cependant, les estimations des risques observées n'augmentaient pas de façon monotone dans les catégories correspondant à une durée d'exposition plus longue. L'utilisation de pyrèthre était associée à un risque élevé de LF (OR = 3,7 [1,5-9,2]) et la relation avec la durée d'utilisation semblait monotone (utilisation > 10 ans : OR = 5,4 [1,8-16,5] ; p de tendance = $3{,}6\times10^{-3}$). Cette analyse suggère une hétérogénéité étiologique possible des LNH vis-à-vis de l'exposition aux substances actives étudiées.

Les méta-analyses sur le glyphosate de Chang en 2016 (Chang et Delzell, 2016) puis plus récemment de Zhang en 2019 (Zhang et coll., 2019) reposent sur 5 études cas-témoins publiées entre 2001 et 2009 et les données de la cohorte AHS. L'étude de Zhang et coll. a inclus l'analyse la plus récente de la cohorte AHS publiée en 2018 (Andreotti et coll., 2018), tandis que celle de Chang et Delzell était basée sur une analyse de l'AHS publiée en 2005 (de Roos et coll., 2005). La première (Chang et Delzell, 2016) met en évidence un risque élevé de LNH statistiquement significatif chez les agriculteurs exposés au glyphosate mOR = 1,3 [1,0-1,6] avec peu d'hétérogénéité dans les résultats des études ($I^2 = 0\ \%$) et absence de biais de publication identifiable. Cette association était robuste à plusieurs analyses secondaires selon plusieurs méthodes statistiques, la permutation des résultats par ceux d'une analyse plus récente (AHS), ou les deux à la fois. La seconde méta-analyse (Zhang et coll., 2019) se concentre sur les sujets les plus exposés au glyphosate (en durée et en intensité) et observe un risque un peu plus élevé : mOR = 1,4 [1,1-1,8]. Une analyse secondaire à partir des données de l'AHS de 2005 et des groupes les plus fortement exposés montre un risque de LNH comparable : mOR = 1,45 [1,11-1,91]. Plusieurs analyses de sensibilité utilisant différentes

catégorisations de l'exposition, selon les sous-types de LNH inclus, le lieu géographique de l'étude, l'exposition à d'autres pesticides, le type d'analyse statistique, ou l'exclusion tour à tour d'une des 6 études ont retrouvé des risques semblables. Au total, cette dernière étude rapporte un risque légèrement plus élevé que les trois autres méta-analyses (Schinasi et Leon, 2014 ; Chang et Delzell, 2016 ; IARC, 2017) mais celle-ci est la seule à aborder l'analyse des groupes les plus exposés. Une autre différence notable est l'inclusion des cas de myélome multiple dans le groupe des LNH dans la dernière version de l'analyse de l'AHS (conformément à la classification OMS et à une publication du consortium *InterLymph* qui placent ces hémopathies malignes dans le groupe des hémopathies lymphoïdes à cellules B matures car dérivant d'une prolifération monoclonale de plasmocytes). Cependant, une analyse de sensibilité montre que les résultats ne sont pas expliqués par cette prise en compte des myélomes. En effet, une association entre le myélome multiple et le glyphosate, si elle existait, aurait pu être à l'origine de cette élévation du risque, mais cela n'est pas démontré dans la dernière analyse de la cohorte AHS et repose aujourd'hui sur un faible niveau de preuve. Aucune analyse par sous-type de LNH n'est disponible dans la méta-analyse de Zhang et coll. (2019). Les deux résultats allant dans le même sens et spécifiques d'un sous-type de lymphome (le lymphome diffus à grande cellules B et plus largement les lymphomes B) sont ceux de Leon et coll. (2019) et Schinasi et coll. (2014), évoqués ci-dessus.

Enfin, une méta-analyse sur des données individuelles (ou analyse poolée) publiée en 2019 examine le rôle spécifique de l'exposition au glyphosate sur le risque de LNH et ses principaux sous-types en utilisant les études cas-témoins menées aux États-Unis et au Canada (*North American Pooled Project* – NAPP), études dont la majorité sont prises en compte dans les méta-analyses préalablement décrites plus haut (Pahwa et coll., 2019). Les auteurs montrent que les sujets ayant utilisé du glyphosate ont un risque élevé de LNH (OR = 1,4 [1,1-1,8]) mais après ajustement sur l'exposition aux pesticides 2,4-D, dicamba et malathion le risque est atténué et non statistiquement significatif (OR = 1,1 [0,8-1,5]). Les auteurs font les mêmes observations concernant l'analyse par sous-type de LNH. Cependant, une association positive statistiquement significative avec le risque de LNH est observée chez les sujets ayant utilisé du glyphosate plus de deux jours par an (OR = 1,7 [1,0-2,9] ; p de tendance = 0,2) de même que chez les sujets atteints de LDGCB (OR = 2,1 [1,1-4,3] ; p de tendance = 0,2) ce qui est concordant avec les résultats des méta-analyses abordées plus haut. Ces risques élevés ne sont toutefois pas retrouvés avec la durée de l'exposition en années. La tendance vie entière est significative uniquement pour le lymphome lymphocytique lorsque l'on analyse la variable d'exposition en continu avec des risques élevés non significatifs.

Deux méta-analyses se focalisant sur le phénoxyherbicide 2,4-D ont été publiées récemment (Goodman et coll., 2017 ; Smith et coll., 2017). La première qui est une mise à jour de la méta-analyse de 2015 (Goodman et coll., 2015) compile les données de 10 études publiées entre 1991 et 2011 dont les données de la cohorte AHS (publiées par de Roos et coll., 2005) et ne montre aucune association entre le risque de LNH et l'exposition (oui/non) au 2,4-D, mRR = 1,0 [0,8-1,2]. La seconde méta-analyse rassemble les résultats de 11 études cas-témoins (dont deux nichées) et une cohorte de professionnels publiés entre 1992 et 2013. Cette méta-analyse n'inclut pas les données de la cohorte AHS. Les auteurs s'intéressent aux expositions les plus élevées au 2,4-D de chaque étude et identifient une association positive statistiquement significative avec le risque de LNH : mRR = 1,7 [1,1-2,7] avec une hétérogénéité inter-études modérée (I^2 = 56 %, test d'hétérogénéité p = 0,009) ce qui requiert une certaine prudence dans l'interprétation des résultats. En effet, cette méta-analyse regroupe des études ayant des méthodes d'analyse ou des conditions expérimentales différentes : scénarios d'exposition, évaluation de l'exposition, interprétation des résultats, analyses statistiques ou populations d'étude.

Enfin, une méta-analyse sur le rôle de l'exposition des professionnels au pentachlorophénol (métiers du bois ou usine de fabrication) réalisée à partir des données de 5 études cas-témoins assez anciennes (1986 à 1994), montre un risque élevé de LNH mOR = 2,7 [1,3-5,3] (Zheng et coll., 2015).

- ***Cohortes***

La cohorte AHS a été ré-analysée et publiée en 2014 par Alavanja en distinguant 26 familles de pesticides ou substances actives (Alavanja et coll., 2014). Cette analyse présente également les résultats pour cinq sous-types d'hémopathies lymphoïdes fréquents dont les myélomes multiples qui seront détaillés dans un chapitre à part. Une association positive est retrouvée entre le risque de LNH et l'exposition au terbufos (RR = 1,2 [1,0-1,5]) sans effet-dose. En revanche, des associations positives sont observées avec le DDT (RR = 1,7 [1,1-2,6]) et le lindane (RR = 2,5 [1,4-4,4]) dans la catégorie des professionnels les plus exposés (nombre total de jours d'exposition), avec des risques qui augmentent avec le nombre total de jours d'exposition (tendances statistiquement significatives), bien qu'aucune association ne soit observée en binaire (exposé oui/non). L'exposition au lindane est associée à un risque élevé mais non significatif de lymphome folliculaire (RR = 1,7 [1,0-3,2]) alors que les associations augmentent avec l'exposition (en nombre total de jours) avec une tendance significative des risques (RR = 1,0 [réf], 4,9 [1,9-12,6], 3,6 [1,4-9,5] ; p de tendance = 0,04). Même observation pour

le lymphome folliculaire et le diazinon, les risques augmentent avec le nombre de jours d'exposition (RR = 1,0 [réf], 2,2 [0,9-5,4], 3,8 [1,2-11,4] ; p de tendance = 0,02). L'exposition au terbufos et l'exposition au DDT sont positivement associées au lymphome lymphocytique/leucémie lymphoïde chronique/lymphome à cellules du manteau (LL/LLC/LCM) avec la même tendance significative des risques qui augmentent avec le nombre total de jours d'exposition. Ces observations persistent après ajustements mutuels. Trois autres substances actives sont associées à des risques élevés sans effet-dose identifié : le bromure de méthyle (*bromomethane*) et lymphome diffus à grandes cellules B (RR = 1,9 [1,1-3,3]), le métalaxyl et le chlordane et le LL/LLC/LCM (RR = 1,6 [1,0-2,5] ; RR = 1,4 [1,0-2,0]). Cette analyse par substance active et sous-type de LNH a pour conséquence que la majorité des associations identifiées reposent sur un petit nombre d'exposés.

Une analyse plus récente de la cohorte AHS (Andreotti et coll., 2018) s'adresse spécifiquement à l'exposition au glyphosate et ne met pas en évidence de risque élevé avec les LNH ou ses principaux sous-types.

Enfin, une analyse de cohorte en population générale publiée en 2015 (Schinasi et coll., 2015), la « *Women's Health Initiative (WHI)* » (76 493 femmes suivies pendant 11,5 années en médiane, 822 LNH), a évalué le risque de LNH en relation avec le fait d'avoir vécu ou travaillé dans une ferme (sans distinction) (RR = 1,1 [1,0-1,3]) ainsi que l'utilisation d'insecticides à la maison ou dans le contexte de l'emploi. Les femmes ayant déclaré qu'un service commercial avait appliqué au moins une fois des insecticides dans leur environnement immédiat, présentaient un risque plus élevé de leucémie lymphoïde chronique/lymphome lymphocytique (LLC/LL) : RR = 1,7 [1,2-2,4]. Les femmes de moins de 65 ans ayant appliqué au moins une fois des insecticides présentaient un risque également plus important de LDGCB (RR = 1,9 [1,1-3,1]) que les non-utilisatrices. Ces résultats méritent d'être répliqués pour pouvoir confirmer le lien entre l'exposition domestique aux insecticides et le risque de survenue des différents sous-types de LNH.

- ***Études cas-témoins***

Trois études cas-témoins apportent également des résultats probants. Tout d'abord une étude cas-témoins en population générale réalisée dans quatre villes américaines et publiée en 2015 (Czarnota et coll., 2015) étudie un mélange de 27 produits chimiques environnementaux corrélés (cinq polychlorobiphényles, sept hydrocarbures aromatiques polycycliques et quinze pesticides), mesurés dans la poussière domestique (n = 1 180). Cette étude estime les associations entre les LNH et un score pondéré basé sur les quartiles des concentrations en produits chimiques. Cet index est associé

positivement avec le risque de LNH (OR = 1,3 [1,1-1,6] ; p = 0,006, pour l'augmentation d'un quartile). Les risques étaient élevés dans les quatre régions et statistiquement significatifs dans trois des quatre régions (Détroit, Iowa et Los Angeles), pour le lymphome folliculaire et le lymphome de la zone marginale (OR = 1,5 [1,1-2,0] ; p = 0,014 et OR = 2,1 [1,3-3,5] ; p = 0,006 pour l'augmentation d'un quartile, respectivement). Les résultats décrivant le poids de chacun des produits chimiques montrent une importance élevée des pesticides dans les associations décrites. Analysés individuellement, certains pesticides étaient associés au risque de LNH : les quartiles les plus élevés d'α-chlordane (OR = 1,4 [1,0-2,0]) et de γ-chlordane (OR = 1,4 [1,0-1,9]) sont associés positivement. Pour le chlorpyrifos et le dicamba, les risques étaient inversement associés au LNH.

Une seconde étude cas-témoins multicentrique réalisée en Europe (EPILYMPH) publiée en 2013 (Cocco et coll., 2013) a inclus 2 348 cas et 2 462 témoins dans 6 pays. Les données de l'historique professionnel et des questionnaires spécifiques sur les travaux effectués à la ferme ainsi que des questions spécifiques sur les cultures, la taille de la ferme, les parasites traités, le type et le calendrier de traitement par pesticide étaient recueillies. Le risque de leucémie lymphoïde chronique est associé à l'exposition aux pesticides non organiques (OR = 1,6 [1,0-2,5]) et aux organophosphorés (OR = 2,7 [1,2-6,0]) reposant néanmoins sur un relativement faible nombre d'exposés. Une analyse restreinte aux sujets les plus vraisemblablement exposés (expositions revues par un hygiéniste), ne montrait aucune association. Aucun effet-dose n'était identifié.

Il est également important de citer de nouveaux travaux étudiant le rôle de l'exposition professionnelle agricole aux pesticides non pas uniquement sur la survenue de la maladie mais également sur le devenir du patient au cours de son traitement. Une étude française de nature rétrospective publiée en 2019 (Lamure et coll., 2019) montre que l'exposition professionnelle agricole aux pesticides est associée à un échec du traitement, à la survie sans évènement et à la survie globale des patients atteints de lymphome diffus à grandes cellules B. Ce type d'étude est à encourager car il aborde un pan inconnu pour l'instant de l'impact de l'exposition aux pesticides qui, comme le montre cette étude, peut entrer en concurrence avec l'efficacité des traitements.

Synthèse des données par familles et substances actives

La synthèse des données par familles et substances actives impliquées dans les excès de risque significatifs de survenue de LNH est présentée ci-dessous.

- ***Organochlorés***

L'expertise collective Inserm de 2013 (Inserm, 2013) décrivait un nombre important d'études qui s'étaient intéressées au lien entre exposition aux organochlorés (aldrine, dieldrine, DDT, chlordane, endrine, heptachlore, lindane, méthoxychlore, nonachlore, oxychlordane, toxaphène...) et LNH (voir tableau 4.IV de l'édition 2013). Nous détaillons ci-dessous les données pour les principales matières actives.

Lindane

Dans l'édition 2013 de l'expertise collective, des augmentations statistiquement significatives de risque de LNH au sein de la cohorte AHS ont été observées avec le lindane pour la catégorie d'exposition la plus élevée de même que dans des études cas-témoins (poolées ou non) et plus particulièrement suite à son utilisation en culture. Cela a permis de conclure à une présomption forte de lien entre l'exposition au lindane (applicateurs et agriculteurs) et le risque de LNH.

Depuis 2013, une revue systématique de la littérature accompagnée d'une méta-analyse a été publiée en 2014 par le Circ (Schinasi et Leon, 2014). Celle-ci rapporte des estimations d'associations entre les LNH et 21 familles de pesticides et 80 substances actives extraites de 44 articles originaux dont le lindane, dont l'exposition est associée positivement à la survenue de LNH mRR = 1,6 [1,2-2,2]. Cependant, aucun effet-dose n'est résumé dans cette étude.

En revanche, dans la méta-analyse réalisée à partir des données des trois cohortes de travailleurs agricoles du consortium Agricoh (Leon et coll., 2019), les auteurs n'observent aucune association avec le lindane (avec des risques inférieurs à 1, non significatifs) à l'exception de la LLC/LL pour laquelle le risque pour l'exposition au lindane est d'un mRR = 1,1 [0,9-1,4]. De plus une étude du NAPP (étude poolée nord-américaine) montre une association positive entre l'exposition au lindane (OR = 1,6 [1,2-2,1]) et le lymphome folliculaire (LF), le LDGCB, le lymphome lymphocytique avec une tendance significative avec la durée d'exposition non linéaire (Kachuri et coll., 2020).

La cohorte AHS a été ré-analysée et publiée en 2014 par Alavanja en distinguant 26 familles de pesticides ou substances actives dont le lindane (Alavanja et coll., 2014). Une association positive est observée avec le lindane (RR = 2,5 [1,4-4,4]) dans la catégorie des professionnels les plus exposés (nombre total de jours d'exposition) avec des risques qui augmentent avec

le nombre total de jours d'exposition (tendances statistiquement significatives). L'exposition au lindane semble également associée à un risque élevé de lymphome folliculaire (RR = 1,7 [1,0-3,2]) et une tendance significative à l'augmentation du risque avec l'exposition (en nombre total de jours) est observée (RR = 1,0 [réf], 4,9 [1,9-12,6], 3,6 [1,4-9,5] ; p de tendance = 0,04).

Pour le lindane, la présomption de lien reste donc élevée pour les applicateurs et agriculteurs, au même niveau que l'édition 2013. Aucune information portant spécifiquement sur l'exposition des éleveurs au lindane n'a été publiée depuis 2013, la présomption de lien reste donc inchangée (moyenne). Seule la méta-analyse du consortium Agricoh (El-Zaemey et coll., 2019) examine le risque d'hémopathie maligne chez les éleveurs et ne montre aucune association avec les principaux sous-types de LNH à l'exception d'un risque significativement élevé de lymphome folliculaire chez les éleveurs de bovins dans une analyse de sensibilité prenant comme groupe de référence les agriculteurs n'ayant jamais élevé aucun bétail.

DDT

L'expertise collective de 2013 rapportait des augmentations statistiquement significatives de risque de LNH chez les agriculteurs exposés au DDT permettant de conclure à une présomption forte d'un lien entre l'exposition et le risque de LNH. Cependant, le risque était atténué jusqu'à ne plus atteindre le seuil de significativité statistique après ajustement sur l'utilisation d'autres pesticides. Par ailleurs, les mesures de concentrations en DDT dans des compartiments biologiques (plasma, sérum, tissus adipeux) ou dans des poussières de maison n'ont pas permis la mise en évidence d'une quelconque relation entre ces concentrations et la survenue de LNH. Enfin, les auteurs soulignaient que certaines catégories de populations (présentant des antécédents familiaux d'hémopathie maligne, asthmatiques, porteurs de translocation t(14 ;18)) pouvaient présenter un risque accru de LNH suite à l'exposition à certains organochlorés.

Depuis 2013, la revue systématique de la littérature et méta-analyse publiée en 2014 par le Circ (Schinasi et Leon, 2014) rapporte une association entre les LNH et l'exposition professionnelle au DDT (mRR = 1,3 [1,1-1,5]) basée sur 7 études (6 études cas-témoins et une étude de cohorte publiée par Purdue et coll. en 2007). Cette association était robuste aux analyses de sensibilités évaluant l'effet du sexe, du type d'étude, de la période de diagnostic, la région géographique, la source des témoins pour les études cas-témoins. Cependant, ce résultat n'est pas retrouvé dans la cohorte AHS (telle que publiée en 2007) et aucun effet-dose n'est présenté dans cette méta-analyse. Les

associations entre DDT et les sous-types de LNH sont étudiées dans un petit nombre d'articles montrant néanmoins que les lymphomes à cellules B sont associés positivement à l'exposition au DDT, mRR = 1,4 [1,0-2,0] avec une absence d'hétérogénéité entre les résultats des études. Le lymphome folliculaire est associé au DDT, mRR = 1,5 [1,0-2,4] avec une hétérogénéité modérée entre les résultats des études.

En revanche, dans la méta-analyse réalisée à partir des données des trois cohortes de travailleurs agricoles du consortium Agricoh (Leon et coll., 2019), les auteurs n'observent aucune association avec le DDT (cohorte AHS comprise). Toutefois, pour un pesticide lipophile et persistant tel que le DDT, l'exposition pourrait rester pertinente même plusieurs décennies au-delà de la période d'utilisation active, en particulier pour son métabolite, le DDE, ce qui justifierait leur inclusion dans ces analyses. La dernière étude du NAPP (étude poolée nord-américaine) montre une association positive entre l'exposition au DDT (OR = 1,4 [1,1-1,7]) et le LDGCB, le lymphome lymphocytique avec une tendance significative avec la durée d'exposition non linéaire (Kachuri et coll., 2020).

Les études portant sur les biomarqueurs de l'exposition aux insecticides organochlorés dans le sérum, le plasma et les tissus adipeux et le risque de LNH ont récemment été résumées dans une méta-analyse (Luo et coll., 2016) montrant une association avec les organochlorés regroupés ensemble mais aucune association avec le DDT, tout en signalant des associations plus fortes avec le DDE, mOR = 1,4 [1,1-1,6], et avec d'autres pesticides organochlorés comme l'hexachlorocyclohexane (HCH), le chlordane et l'hexachlorobenzène (HCB). Plus récemment, une étude a été réalisée en Asie (Bassig et coll., 2019), où la forte exposition et la contamination environnementale historique de certains pesticides organochlorés (par exemple, DDT et HCH) sont différentes des populations occidentales. Cette étude cas-témoins nichée dans trois cohortes (Shanghai et Singapour) a inclus 167 cas de LNH et 167 témoins. Elle évalue l'exposition à partir des dosages pré-diagnostiques de pesticides organochlorés/métabolites et congénères de polychlorobiphényles (PCB). Les niveaux médians de p, p'-DDE, le principal métabolite du DDT et le β-HCH étaient respectivement jusqu'à 12 et 65 fois plus élevés dans les échantillons des cohortes asiatiques comparées à plusieurs cohortes aux États-Unis ou en Norvège. Une augmentation de risque de LNH a été observée chez les sujets dont les taux de β-HCH étaient plus élevés dans l'ensemble (OR 3^{e} *versus* 1er tercile = 1,8 [1,0-3,2] ; $p_{tendance}$ = 0,049) et après exclusion des cas diagnostiqués dans les deux ans suivant le prélèvement de sang (OR 3^{e} *versus* 1er tercile = 2,0 [1,1-3,9] $p_{tendance}$ = 0,03). Aucune association significative n'a été observée pour les autres organochlorés, y compris

p, p'-DDE. Ces résultats confirment une association entre le taux sanguin de β-HCH et le risque de LNH. En revanche, bien que certaines études suggèrent que le DDT est associé au risque de LNH, ces résultats pour le p, p'-DDE ne confirment pas cette association.

D'autre part, la cohorte AHS a été ré-analysée et publiée en 2014 par Alavanja en distinguant 26 familles de pesticides ou substances actives dont le DDT (Alavanja et coll., 2014). Une association positive est observée entre l'exposition au DDT (RR = 1,7 [1,1-2,6]) et le risque de LNH dans la catégorie des professionnels les plus exposés (nombre total de jours d'exposition) avec des risques qui augmentent avec le nombre total de jours d'exposition (tendances statistiquement significatives). L'exposition au DDT est positivement associée au lymphome lymphocytique/leucémie lymphoïde chronique/lymphome à cellules du manteau (LL/LLC/LCM) avec la même tendance significative des risques qui augmentent avec le nombre total de jours d'exposition. Ces observations persistent après ajustements mutuels.

Compte tenu des données disponibles, la présomption de lien entre l'exposition au DDT et le risque de LNH reste donc élevée pour les agriculteurs, au même niveau que dans l'expertise 2013 (++).

Chlordane

Dans la version 2013 de l'expertise, la présomption de lien était faible car reposant uniquement sur une association positive mise en évidence dans une seule étude cas-témoins réalisée chez des éleveurs (Cantor et coll., 1992), les autres études étant menées en population générale.

Depuis lors, les études portant sur les biomarqueurs de l'exposition aux insecticides organochlorés dans le sérum, le plasma et les tissus adipeux et le risque de LNH ont récemment été résumées dans une méta-analyse qui rassemble non seulement des études faites chez les professionnels mais aussi en population générale (Luo et coll., 2016) et qui montre une association avec le chlordane (OR = 1,9 [1,5-2,5]). D'autre part, l'étude de la cohorte AHS publiée en 2014 par Alavanja montre que l'exposition au chlordane est associée à des risques élevés de LL/LLC/LCM (RR = 1,4 [1,0-2,0]) sans effet-dose identifié. Cette association repose sur un petit nombre d'exposés (49 sujets exposés *versus* 90 non exposés).

Une étude cas-témoins en population générale réalisée dans quatre villes américaines et publiée en 2015 (Czarnota et coll., 2015) étudie un mélange de 27 produits chimiques environnementaux corrélés, mesurés dans la poussière domestique (n = 1 180). Cette étude, évoquée plus haut, s'intéresse

principalement à un score pondéré prenant en compte la concentration mesurée pour 27 produits chimiques d'intérêt (dosages de cinq polychlorobiphényles, sept hydrocarbures aromatiques polycycliques et quinze pesticides). Analysés individuellement, certains pesticides étaient associés au risque de LNH et, en particulier, les quartiles les plus élevés d'α-chlordane (OR = 1,4 [1,0-2,0]) et de γ-chlordane (OR = 1,4 [1,0-1,9]) étaient associés positivement au risque de LNH.

Enfin, la dernière étude du NAPP (étude poolée nord-américaine) montre une association positive entre l'exposition entre le chlordane (OR = 1,6 [1,2-2,2]) et le LF, le lymphome lymphocytique avec une tendance significative avec la durée d'exposition non linéaire (Kachuri et coll., 2020).

Pour le chlordane, la présomption de lien se renforce et passe de faible à moyenne compte tenu de ces résultats.

Dicamba

Dans l'édition 2013 de l'expertise collective, l'herbicide organochloré dicamba était peu abordé et n'a pas fait l'objet d'une conclusion compte tenu du faible nombre d'études publiées.

Depuis 2013, la revue systématique de la littérature accompagnée d'une méta-analyse a été publiée en 2014 par le Circ (Schinasi et Leon, 2014) et rapporte une association positive spécifique entre l'exposition à cette substance et le risque de LNH (mRR = 1,4 [1,0-2,1]) reposant sur les données de deux études cas-témoins réalisées au Canada et aux États-Unis et publiées en 2001 et 2003.

La méta-analyse des trois cohortes d'agriculteurs publiée en 2019 par le consortium Agricoh (Leon et coll., 2019) ne montre pas d'association positive entre l'exposition spécifique au dicamba et le risque de LNH en général mais uniquement avec le myélome multiple de façon non significative (mRR = 1,2 [0,9-1,6]). Ce résultat est décrit dans la partie portant sur le myélome.

Pour le dicamba, la présomption de lien est faible compte tenu de ces résultats qui doivent être répliqués.

- ***Organophosphorés***

L'expertise collective Inserm de 2013 décrivait un nombre élevé d'études réalisées dans le secteur agricole, principalement des études cas-témoins, poolées ou non, abordant l'exposition aux organophosphorés pris dans leur

ensemble. Des associations significatives ont été observées dans pratiquement toutes les études nord-américaines. Les études cas-témoins poolées ont mis en évidence un risque significativement élevé pour certaines substances actives comme le chlorpyrifos, le coumaphos, le diazinon, le fonofos et le malathion.

Les nouvelles données sont décrites ci-dessous pour les principales substances actives retrouvées dans la revue de la littérature.

Terbufos

Dans l'édition 2013 de l'expertise collective, les auteurs avaient conclu à une présomption de lien moyenne entre l'exposition au terbufos et le risque de LNH en considérant une association positive statistiquement significative entre l'exposition à l'insecticide terbufos et le risque de LNH dans la cohorte AHS pour le niveau d'exposition intermédiaire. Cependant, étaient notés également l'absence d'effet significatif au plus fort niveau d'exposition et le manque de gradient exposition-réponse (quel que soit le groupe de référence) (Bonner et coll., 2010).

Depuis 2013, une méta-analyse a été publiée par le consortium des cohortes d'agriculteurs, Agricoh (Leon et coll., 2019) mettant en évidence une association positive significative entre l'exposition au terbufos et le risque de LNH, mRR = 1,2 [1,0-1,4]. Cette association est basée sur les données de deux cohortes AGRICAN et AHS car le terbufos n'était pas homologué pour une utilisation sur les cultures sélectionnées en Norvège (3^{e} cohorte participant à l'analyse). Aucune hétérogénéité des effets entre les deux cohortes n'était observée. Les risques spécifiques de chaque cohorte sont mRR = 1,1 [0,8-1,5] pour AGRICAN (96 cas exposés) et mRR = 1,2 [1,0-1,5] pour l'AHS (203 cas exposés). Bien que non significatif, le risque est plus élevé pour le lymphome folliculaire mRR = 1,2 [0,8-2,2]. Par ailleurs, comme attendu, l'association entre l'exposition professionnelle au terbufos et le risque de LNH est confirmée dans l'analyse la plus récente de la cohorte AHS publiée préalablement en 2014 (Alavanja et coll., 2014). L'exposition au terbufos est également positivement associée au lymphome lymphocytique/leucémie lymphoïde chronique/lymphome à cellules du manteau (LL/LLC/LCM) avec une tendance significative à l'augmentation des risques avec le nombre total de jours d'exposition. Ces observations persistent après ajustements mutuels.

La méta-analyse de Hu et coll. (2017) inclut cinq études dont l'AHS, publiées entre 1992 et 2015 ayant collecté des informations sur l'exposition à au moins un des trois pesticides organophosphorés suivants : malathion,

diazinon, terbufos. Le risque de LNH n'est pas associé à l'exposition au terbufos mRR = 1,1 [0,9-1,4].

En conséquence, la présomption de lien reste moyenne car les données reposent toujours sur une seule cohorte celle de l'AHS.

Diazinon

Dans l'édition 2013 de l'expertise collective, les études cas-témoins poolées (regroupant les résultats de 4 États des États-Unis) ont mis en évidence un risque significativement élevé de LNH pour le diazinon. Dans les études non poolées, un degré de significativité statistique a été atteint pour le diazinon utilisé avant 1965. Ces résultats ont permis de conclure à une présomption moyenne d'un lien entre l'exposition au diazinon et le risque de LNH chez les agriculteurs.

Les nouvelles données depuis 2013 apportent des résultats concordants, à commencer par une revue systématique de la littérature accompagnée d'une méta-analyse publiée en 2014 par le Circ (Schinasi et Leon, 2014) qui à partir de trois études cas-témoins (dont une étude cas-témoins nichée dans une cohorte) montre une association positive entre l'exposition au diazinon et le risque de LNH (mRR = 1,6 [1,2-2,2]). D'autre part, la méta-analyse de Hu et coll. (2017) inclut sept études dont la cohorte AHS, publiées entre 1992 et 2015 ayant collecté des informations sur l'exposition à au moins un des trois pesticides organophosphorés suivants : malathion, diazinon et terbufos. L'exposition au diazinon est significativement associée au risque de LNH, mRR = 1,4 [1,1-1,7] avec une absence d'hétérogénéité inter-études (I^2 = 0 %). Les résultats de l'étude AHS publiée par Alavanja et coll. (2014) montrent également des risques de lymphome folliculaire qui augmentent avec le nombre de jours d'exposition au diazinon (RR = 1,0 [réf], 2,2 [0,9-5,4], 3,8 [1,2-11,4] ; p de tendance = 0,02).

En conséquence, la présomption de lien entre l'exposition professionnelle agricole au diazinon et le risque de LNH est forte car reposant sur plusieurs études cas-témoins, une cohorte (AHS) et deux méta-analyses.

Malathion

La précédente expertise collective de l'Inserm avait conclu à une présomption forte de lien entre l'exposition professionnelle des agriculteurs au malathion et le risque de LNH. Cette conclusion reposait sur les résultats de plusieurs études cas-témoins, dont une nichée dans une cohorte, montrant des associations significatives avec le risque de LNH. Une étude montrait

des risques plus élevés de LNH avec l'utilisation conjointe de malathion et de carbaryl.

Après 2013, la méta-analyse publiée par le Circ en 2014 (Schinasi et Leon, 2014) retrouve à partir de trois études cas-témoins (dont une étude cas-témoins nichée dans une cohorte) une association positive entre l'exposition au malathion et le risque de LNH (mRR = 1,8 [1,4-2,2]).

Une seconde méta-analyse de Hu et coll. (2017) inclut sept études dont la cohorte AHS, publiées entre 1992 et 2015 ayant collecté des informations sur l'exposition à au moins un des trois pesticides organophosphorés suivants : malathion, diazinon, terbufos. Cette étude montre un risque élevé, mais non significatif, de LNH chez les agriculteurs exposés au malathion, mRR = 1,2 [0,8-1,7] avec une forte hétérogénéité inter-études (I^2 = 73 %). Les résultats les plus récents de l'étude AHS publiée par Alavanja et coll. (2014) ne montrent pas d'association.

Enfin, une analyse poolée publiée en 2019 (Koutros et coll., 2019) examine le rôle de l'exposition à des insecticides spécifiques (11 organophosphorés et 2 carbamates) sur le risque de LNH et ses principaux sous-types, au sein de trois études cas-témoins réalisées en population générale dans les années 1980 aux États-Unis et une étude cas-témoins canadienne publiée dans les années 1990 (1 690 cas et 5 131 témoins). Une association positive statistiquement significative est observée entre l'exposition au malathion et le risque de LNH, OR = 1,4 [1,1-1,8] après ajustement mutuel sur les autres substances. Ce risque augmente avec la durée d'utilisation (p de tendance < 0,01), rapportée par les agriculteurs, avec un risque plus important pour une utilisation du malathion pendant 6 années ou plus par rapport aux non-utilisateurs (OR = 1,6 [1,2-2,1]). Après ajustement sur les autres pesticides étudiés, les auteurs observent également une association entre l'exposition au malathion et les deux principaux sous-types de LNH, le LDGCB (OR = 1,6 [1,2-2,2]) et le lymphome folliculaire (OR = 1,6 [1,1-2,3]) avec une augmentation des risques avec la durée de l'exposition.

On peut également noter qu'aucune association n'est mise en évidence dans l'étude poolée des trois cohortes publiées en 2019 par le consortium Agricoh (Leon et coll., 2019).

En conséquence, la présomption de lien entre l'exposition professionnelle agricole au malathion et le risque de LNH reste considérée comme forte car reposant sur plusieurs études cas-témoins et deux méta-analyses.

- ***Triazines***

En 2013, la présomption de lien entre le risque de LNH et une exposition professionnelle aux triazines dans leur ensemble, chez les travailleurs en industrie de production de pesticides, a été considérée comme étant moyenne, tandis qu'elle a été considérée comme étant faible chez les agriculteurs exposés. En effet, dans la plupart des études, cette augmentation est faible, et fondée sur un petit nombre de cas. Elle n'atteint pas le seuil de significativité statistique et ne présente pas de relation exposition-réponse significative.

Depuis 2013, la méta-analyse publiée par le Circ en 2014 (Schinasi et Leon, 2014) retrouve à partir de quatre études cas-témoins une association positive entre l'exposition agricole aux herbicides de la famille des triazines et le risque de LNH (mRR = 1,5 [1,0-2,1]) avec une hétérogénéité inter-études faible (I^2 = 38,5 %).

Atrazine

Les données disponibles dans l'expertise collective de 2013 montraient une augmentation non significative du risque de LNH chez les agriculteurs de la cohorte AHS en se basant sur 68 cas exposés (publié en 2004). Une réanalyse de la cohorte publiée en 2011 avec une durée de suivi plus longue (quasi doublement du nombre de cas exposés, n = 152) n'a pas mis en évidence d'association entre l'exposition à l'atrazine et la survenue de LNH. La majorité des études cas-témoins individuelles (non-poolées) ont montré une augmentation non-significative du risque de LNH pour l'atrazine. Une analyse poolée de trois études cas-témoins (de Roos et coll., 2003) montrait, en ajustant sur les autres substances, des risques significatifs semblant indiquer un effet plus qu'additionnel (« *superadditive* ») de l'utilisation de l'atrazine en combinaison avec le carbofuran, le diazinon et l'alachlore. Une étude sur les individus porteurs d'une translocation chromosomique t(14;18) a également mis en évidence une augmentation significative de risque de LNH associé à l'exposition à l'atrazine chez ces individus par rapport aux témoins (Schroeder et coll., 2001).

La présomption de lien a donc été considérée par les auteurs de l'expertise comme faible. Aucun élément de preuve supplémentaire n'est disponible depuis 2013.

- ***Carbamates/thiocarbamates***

Concernant les carbamates, la synthèse de l'expertise collective de 2013 documentait leur utilisation dans le secteur agricole avec des données provenant principalement d'études cas-témoins. Les résultats de ces études montraient relativement peu de cohérence, certaines rapportant un risque significativement augmenté, d'autres non. Le seuil de significativité statistique était atteint dans une étude poolée réalisée à partir des données de trois études cas-témoins. La présomption de lien entre l'exposition aux carbamates chez les agriculteurs et le risque de LNH était considérée comme moyenne.

Depuis 2013, une revue systématique de la littérature accompagnée d'une méta-analyse a été publiée en 2014 par le Circ (Schinasi et Leon, 2014). À partir des trois études cas-témoins anciennes et déjà prises en compte dans l'expertise de 2013 (1992-2001), les auteurs montrent des associations positives sans hétérogénéité inter-études (I^2 = 0 %) entre l'exposition aux herbicides et insecticides carbamates et le risque LNH avec respectivement des risques mRR = 1,4 [1,1-2,0] et mRR = 1,7 [1,3-2,3].

Butilate

Dans l'édition de 2013, la présomption de lien entre l'exposition au butilate chez les applicateurs et le risque de LNH a été considérée comme moyenne car reposant sur une association statistiquement significative mise en évidence à partir des données de la cohorte AHS quel que soit le paramètre d'exposition utilisé et quel que soit le groupe de référence, avec une tendance dose-réponse statistiquement significative. Le nombre de cas exposés était toutefois assez faible. D'autre part une étude poolée de trois études cas-témoins réalisée en Amérique du nord publiée en 2001 montrait également une association positive (Zheng et coll., 2001).

Depuis 2013, une méta-analyse de trois cohortes d'agriculteurs publiée en 2019 par le consortium Agricoh ne montre pas d'association entre l'exposition spécifique au butilate et le risque de LNH (Leon et coll., 2019). La présomption de lien reste donc moyenne.

Carbaryl

Concernant le carbaryl, la synthèse de l'expertise collective de 2013 concluait à une présomption faible de lien du fait d'associations mises en évidence dans plusieurs études cas-témoins mais le risque n'était pas clairement démontré dans la cohorte AHS.

Depuis 2013, la revue systématique de la littérature accompagnée d'une méta-analyse a été publiée en 2014 par le Circ (Schinasi et Leon, 2014). Celle-ci rapporte des estimations d'associations entre les LNH et le carbaryl (mRR = 1,7 [1,3-2,3]) à partir des données de deux études cas-témoins déjà prises en compte dans l'expertise 2013.

La méta-analyse de trois cohortes d'agriculteurs publiée en 2019 par le consortium Agricoh (Leon et coll., 2019) ne montre pas d'association entre l'exposition spécifique au carbaryl et le risque de LNH.

Enfin, une méta-analyse publiée en 2019 (Koutros et coll., 2019) examine le rôle de l'exposition à des insecticides spécifiques (dont 2 carbamates) sur le risque de LNH, au sein de trois études cas-témoins réalisées en population générale dans les années 1980 aux États-Unis et une étude cas-témoins canadienne publiée dans les années 1990 (1 690 cas et 5 131 témoins). Une association positive statistiquement significative est observée entre l'exposition au carbaryl et le risque de LNH (mOR = 1,6 [1,2-2,2]) qui s'estompe après ajustement mutuel sur les autres substances (mOR = 1,2 [0,8-1,6]).

Aucune association entre exposition au carbaryl et LNH n'est mise en évidence dans la dernière analyse de la cohorte AHS (Alavanja et coll., 2014) avec la nouvelle définition de l'entité LNH (incluant LLC et myélome). Cependant, une association est mise en évidence avec l'ancienne définition du groupe LNH (donnée non montrée). Les applicateurs les plus exposés au carbaryl ont un risque élevé de lymphome folliculaire, RR = 2,8 [1,0-7,4] avec une augmentation des risques avec l'exposition dont la tendance est toutefois non significative.

Au regard des nouvelles données la présomption de lien reste faible.

Carbofuran

Comme pour le carbaryl, les données disponibles en 2013 avaient permis de conclure à une présomption faible de lien entre l'exposition au carbofuran et le risque de LNH du fait d'une association mise en évidence dans une étude poolée de trois études cas-témoins tandis qu'une augmentation faible non significative du risque était observée chez les applicateurs de la cohorte AHS exposés aux plus fortes doses de carbofuran.

Depuis 2013, la méta-analyse publiée en 2014 par le Circ (Schinasi et Leon, 2014) rapporte une association positive entre les LNH et le carbofuran (mRR = 1,7 [1,3-2,3]) à partir des données de deux études cas-témoins déjà prises en compte dans l'expertise 2013.

La méta-analyse de trois cohortes d'agriculteurs publiée en 2019 par le consortium Agricoh (Leon et coll., 2019) ne montre pas d'association entre l'exposition spécifique au carbofuran et le risque de LNH.

Aucune association entre l'exposition au carbofuran et LNH n'est mise en évidence dans la dernière analyse de la cohorte AHS publiée en 2014 (Alavanja et coll., 2014).

Enfin, une analyse poolée publiée en 2019 (Koutros et coll., 2019) combinant les données de trois études cas-témoins réalisées dans les années 1980 aux États-Unis et une étude cas-témoins canadienne publiée dans les années 1990 (1 690 cas et 5 131 témoins) montre un risque élevé de LNH non statistiquement significatif (mOR = 1,3 [1,0-1,7]).

Au regard des nouvelles données la présomption de lien reste donc faible.

- ***Phénoxyherbicides non contaminés***

Afin de limiter la confusion due au fait que les préparations commerciales de phénoxyherbicides peuvent être contaminées par des dérivés polychlorinés formés durant le processus de fabrication des dibenzo-dioxines polychlorinés (PCDD) et des dibenzo-furanes polychlorinés (PCDF), l'analyse réalisée en 2013 sur les phénoxyherbicides avait porté sur l'acide 4-chloro-2-méthyl phénoxyacétique (MCPA) et l'acide 2,4-dichlorophénoxy acétique 2,4-D. Les nouvelles données concernant ces composés sont considérées ci-dessous.

2,4-D

L'expertise précédemment publiée en 2013 rapportait une association statistiquement significative entre l'exposition des agriculteurs (hommes et femmes) au 2,4-D et le risque de LNH (en particulier les formes extra ganglionnaires de LNH), dans une étude cas-témoins nichée dans une cohorte d'agriculteurs californiens (Mills et coll., 2005). En revanche, les études cas-témoins individuelles les plus récentes (après 2005) rapportaient des associations non significatives de risque de LNH après exposition au 2,4-D. L'exposition au 2,4-D combinée à celle du malathion montrait un risque significativement augmenté dans une étude canadienne (Hohenadel et coll., 2011). Les auteurs avaient conclu à une présomption de lien moyenne.

Depuis 2013, la méta-analyse publiée par le Circ (Schinasi et Leon, 2014) montre à partir de cinq études cas-témoins (dont l'étude cas-témoins nichée dans une cohorte) une association positive entre l'exposition au 2,4-D et le risque de LNH (mRR = 1,4 [1,0-1,9]) avec une hétérogénéité inter-études

relativement élevée (I^2 = 61,5 %). Deux autres méta-analyses se sont focalisées uniquement sur le 2,4-D (Goodman et coll., 2017 ; Smith et coll., 2017). La première compile les données de 10 études publiées entre 1991 et 2011 dont les données de la cohorte AHS (de Roos et coll., 2005) et ne montre aucune association entre le risque de LNH et l'exposition (oui/non) au 2,4-D, mRR = 1,0 [0,8-1,2]. La seconde méta-analyse rassemble les résultats de 11 études cas-témoins (dont deux nichées) et une cohorte de professionnels, publiées entre 1992 et 2013 (Smith et coll., 2017). Cette méta-analyse n'inclut pas les données de la cohorte AHS mais celles d'une cohorte menée par *Dow Chemicals* incluant du personnel employé à la production d'herbicides (Burns et coll., 2001). Les auteurs s'intéressent aux expositions les plus élevées au 2,4-D de chaque étude et identifient une association positive statistiquement significative avec le risque de LNH : mRR = 1,7 [1,1-2,7] avec une hétérogénéité inter-études modérée (I^2 = 56 %, test d'hétérogénéité p = 0,009), ce qui requiert une certaine prudence dans l'interprétation des résultats. En effet, cette méta-analyse regroupe des études ayant des méthodes différentes (scénarios d'exposition, évaluation de l'exposition, des résultats, analyses statistiques ou même des populations d'étude). Toutefois, cette étude apporte des preuves d'une relation dose-réponse en comparant les résultats pour des groupes d'exposition élevés à des groupes peu ou pas exposés. Aucun biais majeur dans la conception de l'étude, l'évaluation de l'exposition, la classification des cas ou biais de publication n'ont été détectés.

On peut également noter qu'aucune association statistiquement significative n'est mise en évidence dans l'étude poolée des trois cohortes d'agriculteurs publiées en 2019 par le consortium Agricoh (Leon et coll., 2019).

En conséquence, la présomption de lien entre l'exposition professionnelle agricole au 2,4-D et le risque de LNH reste considérée comme moyenne. En effet, les nouvelles données suggérant une association positive reposent sur une méta-analyse contenant des études anciennes. D'autre part, aucune nouvelle donnée provenant de cohortes de professionnels ne montre d'association.

MCPA

La précédente version de l'expertise publiée en 2013 a montré qu'aucune étude de cohorte de professionnels n'avait pu mettre en évidence d'association positive statistiquement significative entre une exposition au MCPA et le risque de LNH. La plupart des études cas-témoins émanent du Canada et de pays européens, et plus particulièrement de Suède. Les quatre études suédoises ont montré une augmentation statistiquement significative de risque

de LNH chez les professionnels exposés au MCPA. Les autres études cas-témoins européennes et les études canadiennes ont montré des associations non significatives. Les auteurs de l'expertise collective de 2013 concluaient à une présomption faible d'un lien avec le risque de LNH.

Depuis 2013, la méta-analyse publiée par le Circ (Schinasi et Leon, 2014) montre à partir de cinq études cas-témoins (déjà prises en compte dans l'expertise précédente) une association positive non significative entre l'exposition au MCPA et le risque de LNH (mRR = 1,5 [0,9-2,5]) avec une hétérogénéité inter-études modérée (54,4 %). Aucune association n'est mise en évidence dans l'étude poolée des trois cohortes d'agriculteurs publiées en 2019 par le consortium Agricoh (Leon et coll., 2019). Aucun autre élément de preuve n'a été collecté.

En conséquence, la présomption de lien entre l'exposition professionnelle agricole au MCPA et le risque de LNH reste faible.

Mécoprop (MCPP)

L'expertise de 2013 a conclu à une présomption faible d'un lien à partir des travaux d'une seule étude cas-témoins bien faite menée au Canada (*Cross-Canada Study of Pesticides and Health)* montrant des risques élevés de LNH chez les professionnels exposés au mécoprop (MCPP).

Depuis 2013, seule la méta-analyse des trois cohortes d'agriculteurs publiée en 2019 par le consortium Agricoh (Leon et coll., 2019) a étudié cette matière active et ne retrouve pas d'association avec le risque de LNH.

- ***Glyphosate***

Les résultats concernant le glyphosate sont détaillés dans le chapitre « Glyphosate et formulations à base de glyphosate ».

Données toxicologiques sur des substances actives particulières

L'analyse de la littérature épidémiologique a révélé des présomptions de lien fortes entre la survenue d'hémopathies malignes et l'exposition à certains pesticides organophosphorés (malathion et diazinon) et organochlorés (DDT, lindane). Une focalisation sur ces composés a donc été effectuée au regard de la littérature la plus récente tout en rappelant les conclusions de l'expertise collective Inserm de 2013.

Organophosphorés : malathion et diazinon

La précédente expertise collective avait conclu que certains organophosphorés sont des composés que l'on peut considérer comme génotoxiques et pro-oxydants en lien avec l'activation de certaines voies de signalisation impliquées dans la régulation de la prolifération et de la survie cellulaire (Inserm, 2013).

Des études récentes confirment ces observations. Ainsi, les effets génotoxiques du malathion sont observés sur des lymphocytes périphériques de rats exposés *in vitro* (Ojha et Gupta, 2015). Le lien avec la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) a lui aussi été avéré par des études sur le rat Wistar (*in vitro* et *in vivo*) mais à doses relativement élevées : la production d'ERO est augmentée dans des lymphocytes exposés *in vitro* (Ojha et Srivastava, 2014) ou dans des hépatocytes après exposition des animaux adultes pendant 28 jours à une dose de 200 mg/kg/j (Lasram et coll., 2014). Ces traitements ou expositions sont parfois associés à une génotoxicité (Lasram et coll., 2014 ; Ojha et Srivastava, 2014 ; Ojha et Gupta, 2015) ou à un état pro-inflammatoire (Lasram et coll., 2014). Le Circ, dans un rapport récent, a conclu que le malathion possède des propriétés génotoxiques et pro-oxydantes (Guyton et coll., 2015 ; IARC, 2017). Le malathion est aussi décrit comme un agent pro-prolifératif et perturbant la signalisation de récepteurs hormonaux comme celui des androgènes (IARC, 2017).

Pour le diazinon, le travail mené par le Circ (Guyton et coll., 2015 ; IARC, 2017) et les publications les plus récentes (Zeinali et coll., 2018) suggèrent que cet insecticide exerce sur le plan mécanistique des effets *i*) génotoxiques importants *in vivo* et *in vitro* (dans de multiples espèces) ; *ii*) pro-oxydants marqués sur les mêmes modèles mais aussi chez les poissons par altération des fonctions d'enzymes anti-oxydantes, déplétion en glutathion et peroxydation lipidique ; *iii*) pro-inflammatoires chez les rongeurs. À ce stade, il est plus difficile de conclure pour le diazinon quant à une stimulation de la prolifération cellulaire, ou à une immunosuppression (IARC, 2017).

En résumé, les mécanismes d'action du malathion et du diazinon caractérisés dans la littérature en lien avec des hémopathies malignes sont principalement la production d'ERO associée à un état inflammatoire et à une génotoxicité. Les propriétés immunosuppressives potentielles du malathion pourraient aussi être à l'origine des hémopathies malignes (IARC, 2017). Des résultats récents suggèrent aussi des effets de perturbation endocrinienne pour le malathion, et des altérations des profils de méthylation de l'ADN pour le diazinon au niveau de sites CpG potentiellement régulateurs de l'expression de gènes suppresseurs de tumeurs comme *TP53* ou *PTEN* (codant une phosphatase inhibant la voie AKT) (Zhang et coll., 2012b ; Zhang et coll., 2012a).

Organochlorés : lindane et DDT

L'expertise collective de 2013 avait conclu sur la base d'études menées sur plusieurs modèles cellulaires et en particulier dans les lymphocytes humains, que le DDT et son métabolite, le DDE, pouvaient être considérés comme des molécules pro-œstrogéniques et génotoxiques en partie de par la production d'un stress oxydant (Inserm, 2013). Des effets immunomodulateurs ont aussi été observés avec une inhibition de la fonction des cellules NK qui ont pour propriété de lyser les cellules tumorales. Ce type d'inhibition était aussi décrit pour le lindane. Une publication récente confirme son effet génotoxique (Ennaceur, 2017) précédemment évoqué dans l'expertise collective de 2013. Sur le plan mécanistique, le lindane est susceptible d'induire un stress oxydant et d'activer les processus pro-apoptotiques dans des lymphocytes humains (Michalowicz et coll., 2013), ce qui est cohérent avec les effets immunosuppresseurs décrits ci-dessus pour le DDT.

En résumé, les effets mécanistiques des organochlorés (production d'un stress oxydant, apoptose et immunomodulation, génotoxicité) caractérisés dans la littérature à ce jour sont en faveur de la plausibilité d'une relation entre l'exposition chronique de ces composés et l'apparition de pathologies hématopoïétiques. Par ailleurs, bien que ces composés soient potentiellement persistants, leur capacité d'activer l'expression de cytochromes P450 (probablement par liaison à des récepteurs de xénobiotiques, également facteurs de transcription), pourrait modifier le métabolisme de nombreux organes dont le compartiment lymphocytaire et favoriser un phénotype tumoral (Khan et coll., 2013). Cette hypothèse intéressante mériterait d'être explorée.

Conclusion

Treize méta-analyses ont été publiées sur le lien entre l'exposition aux pesticides et le LNH. Les deux premières méta-analyses sont les plus complètes mais de nature différente, la première fait une revue exhaustive des études cas-témoins ou cohortes publiées puis rapporte des estimations d'associations entre les LNH et 21 familles de pesticides et 80 substances actives tandis que la seconde provient du consortium des cohortes d'agriculteurs et étudie le rôle de l'exposition (14 familles de pesticides et 33 substances actives) sur le risque de survenue de LNH et de ses principaux sous-types. Les autres méta-analyses s'intéressent à des familles de substances actives ou à des substances actives spécifiques : 4 abordent l'exposition à une famille ou à plusieurs familles de substances actives et 6 se focalisent sur une substance active particulière. La dernière s'intéresse spécifiquement à l'exposition d'une catégorie d'agriculteurs (éleveurs). Chacune présente des analyses par sous-type

de LNH. Trois analyses de cohortes ont été publiées dont deux à partir des données de l'AHS et une cohorte en population générale (WHI). Enfin, trois études cas-témoins apportent également des résultats probants.

De la première méta-analyse (Schinasi et Leon, 2014), on peut retenir que plusieurs familles de pesticides sont associées positivement avec le risque de LNH (phénoxyherbicides, insecticides carbamates, insecticides organophosphorés). Plusieurs substances actives sont également associées au risque de survenue de LNH (lindane, dicamba, DDT, carbaryl, carbofuran, diazinon, malathion, glyphosate). Cependant, aucun effet dose n'est évalué dans cette étude (effet oui/non). Le risque de lymphome B est associé à l'exposition aux phénoxyherbicides (de même que le lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB)), au glyphosate et au DDT (tout comme le lymphome folliculaire). De la seconde méta-analyse provenant du consortium Agricoh, on retient que la plupart des associations testées sont non statistiquement significatives excepté pour les LNH et le terbufos ou le LDGCB et le glyphosate, après ajustement sur les autres pesticides. Aucun élément d'hétérogénéité entre les résultats des trois cohortes n'est objectivé.

Entre 2013 et 2019, dix autres méta-analyses ont étudié le lien entre une famille spécifique de pesticides ou une substance active et le risque de LNH (deux sur les organochlorés, une sur les organophosphorés, une sur les insecticides carbamates et organophosphorés, trois sur le glyphosate, deux sur le 2,4-D phénoxyherbicide, une sur le pentachlorophénol).

La première sur les organochlorés rapporte une augmentation du risque de LNH avec la famille des organochlorés, et de fortes associations avec le DDE, l'HCH, l'HCB et le chlordane. En revanche, aucune association n'est observée avec le DDT. L'étude récente du NAPP rapporte des associations positives entre plusieurs substances actives organochlorées et différents sous-ensembles de LNH, en particulier pour le lindane, le chlordane et le DDT. Le lindane avec le lymphome folliculaire (LF), le LDGCB et le lymphome lymphocytique, le chlordane avec le LF et le lymphome lymphocytique, et le DDT avec le LDGCB et le lymphome lymphocytique. Cette analyse suggère une hétérogénéité étiologique possible des LNH vis-à-vis de l'exposition aux substances actives étudiées.

Il ressort de la méta-analyse sur les organophosphorés qu'une augmentation statistiquement significative du risque de LNH est observée pour l'exposition au diazinon, mais pas au malathion ni au terbufos. Cette association est significative uniquement pour certains types d'études (cas-témoins ou cas-témoins nichées dans la cohorte). Certains de ces résultats sont retrouvés dans une autre méta-analyse portant sur l'exposition aux insecticides

carbamates et organophosphorés, en particulier avec le malathion montrant un risque qui augmente avec la durée de l'exposition rapportée par les agriculteurs. Ces résultats sont également observés pour les sous-types LDGCB et lymphome folliculaire. L'évaluation du rôle du mélange de tous les insecticides organophosphorés et carbamates montre une association entre la durée d'exposition et le risque de LNH.

Concernant les méta-analyses centrées sur l'exposition au glyphosate, on peut retenir que le risque de LNH est augmenté selon les études de 30 à 45 % selon que l'on évalue le risque chez l'ensemble des sujets (exposés *versus* non exposés) ou uniquement dans les groupes les plus exposés. Dans une étude regroupant les études cas-témoins, les ajustements sur les expositions aux autres pesticides diminuent le risque ce qui n'est pas observé dans la méta-analyse réalisée à partir des données de cohortes d'agriculteurs (pour plus de détails, voir chapitre « Glyphosate et formulations à base de glyphosate »).

Concernant le 2,4-D phénoxyherbicide, les auteurs qui s'intéressent aux expositions les plus élevées au 2,4-D de chaque étude identifient une association positive statistiquement significative avec le risque de LNH. Cependant, une hétérogénéité inter-études modérée incite à une certaine prudence dans l'interprétation des résultats.

La dernière analyse de la cohorte AHS distingue 26 familles de pesticides ou substances actives. L'association positive avec l'exposition au terbufos est retrouvée (sans effet dose-risque). En revanche, les risques de LNH associés à l'exposition au DDT, au lindane augmentent avec le nombre total de jours d'exposition bien qu'aucune association ne soit observée en binaire (exposé/non exposé). Des associations entre certaines substances actives et des sous-types de lymphomes sont observées mais elles reposent sur un petit nombre de sujets exposés comme le lymphome folliculaire et lindane, diazinon.

À noter que la dernière analyse de la cohorte AHS centrée sur le glyphosate ne met pas en évidence de risque élevé avec les LNH ou ses principaux sous-types (voir chapitre « Glyphosate et formulations à base de glyphosate »).

Dans la seule cohorte féminine en population générale publiée, les femmes de moins de 65 ans ayant appliqué au moins une fois des insecticides présentaient une élévation du risque de LDGCB. Ces résultats méritent d'être répliqués pour confirmer le lien entre l'exposition domestique aux insecticides et le risque de survenue des différents sous-types de LNH.

De même, une étude cas-témoins permet d'apporter de l'information sur l'exposition à 27 produits chimiques environnementaux corrélés, mesurés dans la poussière domestique avec des résultats montrant une association positive entre l'index d'exposition mesuré et le risque de LNH et certains sous-types (lymphome folliculaire et lymphome de la zone marginale).

Enfin, il faut mentionner de nouveaux travaux étudiant le rôle de l'exposition professionnelle agricole aux pesticides sur le devenir du patient au cours de son traitement montrant que l'exposition professionnelle agricole aux pesticides est associée à un échec du traitement, à la survie sans évènement et à la survie globale des patients atteints de LDGCB.

La présomption de lien entre LNH et pesticides reste forte (++) et la synthèse actualisée concernant les familles et substances actives impliquées dans la survenue de LNH est décrite dans le tableau 11.II. Les niveaux de présomption qui étaient forts en 2013 restent inchangés (lindane, DDT, organophosphorés et malathion), en revanche les niveaux de présomption pour le diazinon et le chlordane sont plus élevés qu'en 2013 avec un passage au niveau fort pour le diazinon. Pour le dicamba, un niveau de présomption faible est rapporté pour la première fois. Le niveau de présomption reste faible (±) pour les substances actives suivantes : carbaryl, carbofuran, MCPA, mécoprop. La littérature analysée n'a pas permis de réévaluer le niveau de risque considéré comme faible en 2013 pour les substances actives suivantes : atrazine, aldrine, coumaphos, chlorpyrifos, fonofos.

Des éléments de preuves étaient également décrits dans l'expertise 2013 concernant des populations particulières chez qui un risque accru de LNH était observé pour des expositions à des familles ou substances particulières de pesticides. Il s'agit en particulier des agriculteurs porteurs d'une translocation chromosomique t(14 ;18) mais aussi des agriculteurs présentant un antécédent d'asthme ou d'hémopathie maligne (voir addenda en fin de chapitre : tableau A11.II).

Myélome multiple

Le myélome multiple (MM) est une hémopathie lymphoïde maligne d'origine plasmocytaire caractérisée par une expansion aberrante de plasmocytes dans la moelle osseuse, la présence d'une protéine monoclonale non IgM (sérique et/ou urinaire) et de lésions osseuses (lacunes à l'emporte-pièce ou déminéralisation osseuse).

Tableau 11.II : Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque significatifs de LNH

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Lindane (γ HCH)	Applicateurs , agriculteurs	++
	Éleveurs (mélange d'isomères d'HCH)	+
DDT	Agriculteurs	++
	Professionnels	+
Chlordane[1]	Agriculteurs	+
Dicamba[1]	Agriculteurs	±*
Aldrine[2]	Professionnels	±
DDT + Malathion	Professionnels	±
Organophosphorés		
Sans distinction	Agriculteurs	++
	Personnes exposées (professionnellement ou par usage domestique)	+
	Professionnels	±
Terbufos	Applicateurs	+
Diazinon[1]	Agriculteurs	++
Malathion	Agriculteurs	++
	Personnes exposées (professionnellement ou par usage domestique)	±
	Professionnels	±
Coumaphos[2]	Agriculteurs	±
Chlorpyrifos[2]	Agriculteurs	±
Fonofos[2]	Agriculteurs	±
Carbamates/Dithiocarbamates		
Sans distinction (carbamates)	Agriculteurs	+
	Professionnels	±
Carbaryl	Agriculteurs	±
	Professionnels	±
Carbofuran	Agriculteurs	±
Carbaryl + malathion	Professionnels	±
Butilate	Applicateurs	+
	Agriculteurs	±
Triazines		
Sans distinction	Agriculteurs	±
	Ouvriers en industrie de production	+
Atrazine[2]	Agriculteurs	±
Phénoxyherbicides non contaminés par les dioxines		
2,4-D	Agriculteurs	+
	Professionnels	±
2,4-D + malathion	Professionnels	±
MCPA	Professionnels	±
Mécoprop	Professionnels	±
Mécoprop + malathion	Professionnels	±
Aminophosphonate glycine		
Glyphosate[1]	Agriculteurs ou professionnels	+
Glyphosate + malathion[3]	Professionnels	±

[1] Matière active pour laquelle le niveau de preuve a été élevé dans l'actuelle édition comparativement à l'édition 2013
[2] conclusions de l'expertise collective de 2013. Pas de nouvelles informations
[3] voir chapitre « Glyphosate et formulations à base de glyphosate »
++ au moins une méta-analyse et au moins une étude de cohorte
+ au moins une étude de bonne qualité (cohorte et/ou plusieurs études cas-témoins)
± une étude cas-témoins ; ± * deux études cas-témoins positives mais une méta-analyse négative de trois cohortes : « deux études cas-témoins positives mais une méta-analyse négative de trois cohortes » Données nouvelles

Le myélome multiple (MM) est une des hémopathies malignes les plus fréquentes en France. On estime à 5 442 le nombre de nouveaux cas en France métropolitaine en 2018. Les TSM sont respectivement de 4,2 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 2,9 chez la femme (rapport hommes/femmes égal à 1,4). L'âge médian du MM au diagnostic est de 70 ans chez l'homme et de 74 ans chez la femme. Les TSM ont augmenté entre 1995 et 2018 avec une variation annuelle moyenne de +1,1 % chez l'homme et +0,6 % chez la femme. Entre 1995 et 2018, le nombre de cas de MM passe de 1 440 à 2 822 chez les hommes et de 1 510 à 2 620 chez les femmes. Cette augmentation, de 96 % chez l'homme et 74 % chez la femme, est attribuable aux changements démographiques pour respectivement 58 % et 43 % alors que plus d'un tiers de l'augmentation de l'incidence (respectivement 38 % et 31 %) serait expliqué par une augmentation du risque de survenue de la maladie dans la population, soit par un meilleur diagnostic chez les patients âgés par exemple, soit par l'augmentation de la prévalence de l'exposition à des facteurs de risque (connus ou inconnus) de la maladie, dont les facteurs environnementaux.

Comme évoqué dans l'introduction de ce chapitre, le MM est regroupé selon la classification OMS des hémopathies malignes avec les hémopathies lymphoïdes B à cellules matures (la cellule « d'origine » du MM dérive du plasmocyte, un lymphocyte B qui est capable de produire des anticorps). Historiquement, le MM a pourtant été étudié séparément car c'est une entité reconnue de longue date et considérée comme distincte, c'est pourquoi une partie distincte pour cette maladie a été maintenue dans cette mise à jour de l'expertise collective. Pour autant, certaines études récentes se focalisant sur l'effet d'un principe actif de pesticide en particulier ont regroupé les cas de MM avec le groupe des LNH comme dans la dernière analyse de la cohorte AHS centrée sur l'exposition au glyphosate (Andreotti et coll., 2018).

Résumé de l'expertise collective Inserm de 2013

Les études épidémiologiques portant spécifiquement sur le lien entre pesticides et le MM sont moins nombreuses que celles qui concernent les LNH. Pour autant, à partir des données de six méta-analyses et deux cohortes (AHS et une cohorte nord-européenne), l'expertise collective Inserm de 2013 a conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition aux pesticides, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, chez les agriculteurs et les applicateurs de pesticides et le risque de survenue de MM. Ces méta-analyses n'étaient pas totalement indépendantes car l'on retrouve un bon nombre d'études épidémiologiques dans plusieurs d'entre elles, certaines étant des mises à jour d'anciennes analyses.

Toutes les méta-analyses montrent une augmentation de risque de survenue de MM allant de 9 à 39 % chez les professionnels exposés aux pesticides comparés à la population générale. Cette augmentation de risque atteint le seuil de significativité statistique dans 3 méta-analyses sur les 4 portant sur des agriculteurs. L'augmentation est à la limite de la significativité statistique pour la quatrième méta-analyse chez les agriculteurs ainsi que pour celle reprenant les études menées dans le secteur agricole et non agricole. L'augmentation n'est pas significative dans la méta-analyse concernant l'exposition des travailleurs en industrie de production de pesticides. Les plus fortes augmentations du risque ont été observées, de manière significative, dans la méta-analyse portant sur les agriculteurs ayant travaillé au moins 10 ans dans une ferme ainsi que pour ceux qui ont été exposés au DDT.

Dans la cohorte AHS, l'incidence est augmentée sans toutefois atteindre le seuil de significativité statistique chez les applicateurs professionnels, exposés aux pesticides dans leur ensemble. Une stratification par État (Iowa et Caroline du Nord) a mis en évidence une augmentation significative du risque de MM chez les applicateurs en Caroline du Nord avec une augmentation des ratios d'incidence (41 %) et de mortalité (89 %) standardisés alors que cette augmentation reste non significative pour l'État de l'Iowa. Pour les conjoints des applicateurs privés pris dans leur ensemble, une diminution (non significative) de risque a été rapportée lors de la dernière réévaluation des données de même que pour la sous-cohorte de Caroline du Nord. Les taux de mortalité dus aux MM suivent la même tendance que les taux d'incidence.

Parmi les cohortes autres que l'AHS, l'étude nord-européenne a montré une augmentation modeste mais significative et consistante de l'incidence du MM chez les agriculteurs par rapport à la population générale : pour les deux sexes et pour tous les pays nordiques excepté le Danemark. Une légère augmentation significative du risque de MM a également été observée chez les hommes pratiquant le métier de jardinier. En France, un risque significativement augmenté de 59 % de décès par MM a été observé chez des agriculteurs et ouvriers agricoles. Chez les utilisatrices de pesticides à usage agricole en Grande-Bretagne, des augmentations du risque de MM et décès par MM ont été rapportées mais avec des intervalles de confiance très larges. Cependant, des diminutions de risque (incidence ou mortalité) de MM ont été observées dans d'autres études (Amérique du Nord et Centrale, Italie du Nord, Irlande, Costa-Rica, Australie).

Les cohortes de travailleurs exposés principalement à une classe de pesticides ou à un pesticide bien spécifique sont peu nombreuses. Elles portent généralement sur un nombre de cas très limité ce qui rend extrêmement difficile

l'étude de l'existence éventuelle d'une relation entre ce type d'exposition et les MM. Signalons toutefois que les résultats de l'AHS suggèrent que le risque de MM pourrait être augmenté suite à une exposition à la perméthrine (seul agent pour lequel une augmentation significative de risque a été observée à la plus forte dose). Une tendance à l'augmentation de risque avec certaines intensités d'exposition au glyphosate est observée sans être toutefois significative. L'utilisation d'indicateurs précliniques de MM comme le MGUS (*Monoclonal gammopathy of undetermined significance*), pourrait constituer une approche intéressante pour évaluer des hypothèses sur l'étiologie des myélomes multiples étant donné que l'exposition aux pesticides semble induire plus de cas de MGUS que de MM proprement dit.

Nouvelles données épidémiologiques

Depuis l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, cinq méta-analyses ont été publiées, deux à partir de données de trois cohortes d'agriculteurs, une spécifiquement centrée sur l'exposition au glyphosate et deux analyses poolées d'études cas-témoins dont une abordant des expositions à des pesticides spécifiques (carbaryl, captane et DDT).

Méta-analyses

Une méta-analyse récemment publiée par le consortium des cohortes d'agriculteurs, Agricoh (Leon et coll., 2019) étudie le rôle de l'exposition (de façon binaire : oui/non) entre 14 familles de pesticides et 33 substances actives et le risque de MM. Cette étude inclut également les LNH (voir partie LNH). À partir des données de trois cohortes de travailleurs agricoles (États-Unis – AHS, France – AGRICAN et Norvège – CNAP, totalisant plus de 300 000 sujets, 561 cas de MM et 3,5 millions de personnes-années à risque), les auteurs n'observent aucune association statistiquement significative entre l'exposition aux familles ou substances étudiées et le risque de MM. Des augmentations de risque sont suggérées lors de l'utilisation de quelques principes actifs, dont le dicamba (mHR = 1,21 [0,93-1,59], 179 cas exposés), sans preuve d'hétérogénéité des effets parmi les cohortes (I^2 = 0 %). Les HR spécifiques à chaque cohorte pour l'utilisation de dicamba et de MM étaient : HR = 1,30 [0,70-2,43] dans AGRICAN, HR = 1,15 [0,79-1,67] dans le CNAP et HR = 1,28 [0,77-2,13] dans l'AHS, avec respectivement 40, 92 et 47 cas exposés.

À partir des trois cohortes évoquées ci-dessus, une autre méta-analyse du consortium Agricoh (El-Zaemey et coll., 2019) examine le risque d'hémopathie maligne chez les éleveurs et ne montre aucune association avec le

MM à l'exception d'un risque significativement élevé de MM ou plasmocytome dans l'AHS spécifique aux éleveurs de volailles (mRR = 1,8 [1,1-3,0]) ainsi qu'aux éleveurs de moutons (mRR = 3,5 [1,7-7,5]). Ces résultats n'ont pas été systématiquement rapportés dans la littérature mais ont déjà été observés chez les éleveurs de moutons y compris dans la cohorte AHS.

La méta-analyse sur le glyphosate de Chang et Delzell en 2016 repose sur trois études cas-témoins publiées entre 1993 et 2013 et deux analyses différentes des mêmes données de la cohorte AHS publiées en 2005 (de Roos et coll., 2005) puis en 2015 (Sorahan, 2015). Un risque augmenté de MM, statistiquement significatif, était observé chez les agriculteurs exposés au glyphosate (mRR = 1,5 [1,0-2,2]) en utilisant l'analyse de 2005 de la cohorte AHS et un risque de magnitude comparable (mRR = 1,4 [1,0-1,9]), en utilisant l'analyse de Sorahan publiée en 2015. Cette méta-analyse montrait une absence d'hétérogénéité des effets entre les études (I^2 = 0 %) et une absence de biais de publication identifiable. Cette association était robuste à plusieurs autres analyses secondaires.

Une analyse poolée du consortium *InterLymph* regroupe les données de cinq études cas-témoins réalisées entre les années 1980 et le début des années 2000 en population générale (1 959 cas et 6 192 témoins) afin d'étudier le rôle de la profession et en particulier de celle d'agriculteur sur le risque de survenue du MM (Perrotta et coll., 2013). La profession d'agriculteur n'était pas associée au risque de MM après ajustement sur le type d'étude, le sexe, l'âge et l'origine ethnique. Toutefois, une association avec une valeur de risque modérée à la limite de la significativité statistique est mise en évidence entre la profession de jardinier/ouvrier de pépinière et le risque de survenue d'un MM (mOR = 1,5 [1,0-2,3]).

Une autre analyse poolée nord-américaine (Presutti et coll., 2016) rassemble les données de trois études cas-témoins réalisées en population générale en Iowa, au Nebraska et au Canada (547 cas et 2 700 témoins) et porte plus spécifiquement sur les expositions à certaines familles ou substances actives de pesticides. Les utilisations de carbaryl, de captane ou de DDT sont toutes trois associées à un risque élevé de MM avec des risques statistiquement significatifs respectivement : mOR = 2,0 [1,3-3,2], 2,0 [1,0-3,8] et 1,4 [1,1-2,0]. Dans une analyse restreinte à l'étude canadienne, l'exposition cumulée aux substances est prise en compte : pour le carbaryl, une augmentation de risque est rapportée pour les expositions ≤ 10 jours et > 10 jours durant la vie par rapport aux non exposés (OR = 3,2 [1,4-7,2] et OR = 2,4 [1,1-5,6]). Pour le captane, une exposition ≤ 17,5 jours correspond à un risque élevé OR = 3,5 [1,3-9,3] alors que le risque reste élevé mais non significatif pour une utilisation > 17,5 jours OR = 2,3 [0,8-6,4].

Concernant l'exposition cumulée au DDT, on observe une relation dose-effet significative p = 0,04 avec des risques modérément élevés mais non significatifs pour une utilisation > 22 jours (OR = 1,9 [0,95-3,9]).

Cohortes

Une ré-analyse plus récente de la cohorte AHS (Andreotti et coll., 2018) s'adresse spécifiquement à l'exposition au glyphosate et ne met pas en évidence d'association avec le MM.

La dernière analyse de la cohorte AHS (Alavanja et coll., 2014) abordant plusieurs familles de substances actives, met en évidence une association entre l'exposition à la perméthrine et le risque de MM (RR = 2,2 [1,4-3,5]) avec une tendance selon le nombre de jours cumulé d'utilisation (terciles : RR = 1,0 (réf), RR = 1,4 [0,8-2,7]), RR = 3,1 [1,5-6,2] p de tendance = 0,002).

Plus récemment, une analyse de l'exposition professionnelle aux pesticides dans la cohorte AGRICAN a été publiée (Tual et coll., 2019). Cette étude montre un risque élevé de MM chez les agriculteurs ayant commencé à utiliser des pesticides sur les cultures dans les années 1960, en particulier chez ceux appliquant des pesticides sur du maïs ($\geq$ 20 ans : RR = 1,7 [1,1-2,8], p de tendance < 0,01) et ceux qui utilisent les insecticides sur les animaux (RR = 1,5 [1,1-2,0]), en particulier chez les éleveurs de chevaux ($\geq$ 10 ans : RR = 2,8 [1,2-6,3], p de tendance = 0,01).

Par ailleurs ces résultats montrent que l'incidence des cancers dans la cohorte AGRICAN comparée à celle observée en population générale (Lemarchand et coll., 2017) qui a montré un taux d'incidence plus élevé de MM chez les hommes et les femmes inclus dans la cohorte avec des ratios standardisés d'incidence significatifs dans les deux sexes (hommes, SIR = 1,4 [1,2-1,6] ; femmes, SIR = 1,3 [1,0-1,5]).

Cas-témoins

Une étude cas-témoins canadienne publiée en 2013 (Kachuri et coll., 2013) a contribué à l'analyse poolée décrite ci-dessus et publiée par Presutti (Presutti et coll., 2016). En plus des résultats évoqués ci-dessus dans l'analyse poolée, cette étude basée sur 342 cas et 1 357 témoins, apporte de l'information sur plusieurs expositions aux pesticides, analyse le nombre de pesticides utilisés et le nombre de jours par an d'utilisation des pesticides, ce qui caractérise mieux l'exposition telle qu'elle se produit en milieu professionnel. Des tendances positives du risque de MM sont observées avec le nombre de pesticides utilisés, pour les fongicides (p de tendance = 0,04) et les pesticides

classés comme « cancérogènes probables » par le Circ (p de tendance = 0,03). Des risques accrus de MM sont observés chez les hommes ayant déclaré utiliser au moins un carbamate (OR = 1,9 [1,2-3,3]), un phénoxyherbicide (OR = 1,6 [1,1-2,3]) et trois organochlorés ou plus (OR = 2,2 [1,1-4,7]). De même, l'utilisation de l'herbicide mécoprop (utilisation supérieure à 2 jours par an) était également significativement associée au MM (OR = 2,2 [1,0-4,5]).

Conclusion

Depuis l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, cinq méta-analyses ont été publiées, deux à partir de données de trois cohortes d'agriculteurs, une spécifiquement centrée sur l'exposition au glyphosate et deux analyses poolées d'études cas-témoins dont une abordant des expositions à des pesticides spécifiques (carbaryl, captane et DDT). Les deux méta-analyses réalisées à partir des données de trois cohortes de travailleurs agricoles suggèrent des associations modérées avec l'usage de certaines substances actives mais aucune association statistiquement significative n'est mise en évidence entre l'exposition à la plupart des familles ou substances étudiées et le risque de MM. En revanche, un risque significativement élevé chez les éleveurs de volailles ou de moutons est observé. Ce risque avait déjà été mis en évidence dans la cohorte AHS. Les deux analyses poolées du consortium *InterLymph* réalisées à partir d'études cas-témoins des années 1980 à 2000 réalisées en population générale montraient que la profession de jardinier/ouvrier de pépinière était associée au risque de survenue d'un MM, à la limite de la significativité statistique (mais pas la profession d'agriculteur) et que les utilisations de carbaryl, de captane ou de DDT étaient toutes trois associées à un risque élevé de MM.

Concernant le glyphosate, une méta-analyse d'études cas-témoins montrait un risque élevé de MM statistiquement significatif chez les agriculteurs exposés au glyphosate avec une absence d'hétérogénéité dans les résultats des études et une absence de biais de publication identifiable. Cette association était robuste à plusieurs analyses secondaires. En revanche, la récente ré-analyse de la cohorte AHS ne met pas en évidence d'association entre l'exposition au glyphosate et le risque de MM.

La dernière analyse de la cohorte AHS met en évidence une association statistiquement significative entre l'exposition à la perméthrine et le risque de MM, avec des risques qui augmentent avec l'exposition en nombre de jours d'exposition vie entière (p de tendance = 0,002).

La cohorte AGRICAN montre un risque élevé de MM chez les agriculteurs et en particulier ceux ayant commencé à utiliser des pesticides sur les cultures dans les années 1960, en particulier chez ceux appliquant des pesticides sur du maïs et ceux qui utilisent les insecticides sur les animaux.

Enfin, une étude cas-témoins canadienne montre des tendances positives du risque de MM avec le nombre de pesticides utilisés, pour les fongicides et les pesticides classés comme « cancérogènes probables » par le Circ. Les hommes ayant déclaré utiliser au moins un pesticide carbamate, un phénoxy-herbicide ou trois organochlorés ou plus avaient un risque accru de MM. L'herbicide mécoprop (utilisation supérieure à 2 jours par an) était également significativement associé au risque de MM.

En conséquence, la présomption d'un lien entre exposition professionnelle aux pesticides et MM reste forte car basée sur plusieurs méta-analyses de bonne qualité montrant des associations statistiquement significatives (tableau 11.III).

Tableau 11.III : Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et myélome multiple

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Agriculteurs, applicateurs	++
	Éleveurs	+

++ d'après les résultats de 6 méta-analyses et de deux cohortes prospectives (AHS et cohorte nord-européenne) (2013)
+ d'après les résultats d'une méta-analyse réalisée à partir de trois cohortes Données nouvelles

Le niveau de preuve pour distinguer les substances actives en lien avec le MM est plus faible (tableau 11.IV). Cependant, on peut noter une association positive avec glyphosate dans une méta-analyse (études cas-témoins) qui n'est cependant pas retrouvée dans la méta-analyse des trois cohortes d'agriculteurs (États-Unis, France, Norvège), ni la dernière analyse de la cohorte AHS. L'exposition à la perméthrine est également associée à un risque accru de MM, avec des risques qui augmentent avec l'exposition (AHS). Cette exposition entraîne des altérations des paramètres hématologiques pouvant indiquer une hématopoïèse perturbée, ce qui apporte des arguments à la plausibilité biologique de l'association observée entre l'utilisation de perméthrine et le risque de MM chez les applicateurs de pesticides (Shearer et coll., 2019). On peut citer les associations rapportées avec le carbaryl, le captane et le DDT qui reposent uniquement sur une étude cas-témoins bien faite. Pour ces molécules la présomption de lien est considérée comme faible (« ± »).

Tableau 11.IV : Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque de myélome multiple

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Organochlorés		
DDT	Population générale	±
Carbamates		
Carbaryl	Population générale	±
Pyréthrinoïdes		
Perméthrine	Applicateurs	+
Aminophosphonate glycine		
Glyphosate	Agriculteurs	± [a]
Autres		
Captane	Population générale	±

+ d'après les résultats d'une cohorte en 2013, confirmé au suivi (AHS) Données nouvelles
± d'après les résultats d'une analyse « poolée » de trois études cas-témoins Données nouvelles
± [a] d'après les résultats d'une méta-analyse de trois études cas-témoins et deux analyses de la cohorte AHS qui se recoupent Données nouvelles

Lymphome de Hodgkin

Le lymphome de Hodgkin (LH) est une maladie qui atteint les ganglions superficiels ou profonds sur lesquels l'histologie affirme le diagnostic d'une prolifération monoclonale de lymphocytes B composée en proportion variable de cellules mononucléées de Hodgkin, de cellules plurinucléées de Reed-Sternberg, au sein d'un infiltrat réactionnel composite. Le LH représente environ 10 % des lymphomes avec un nombre de nouveaux cas en 2018 estimé en France à 2 130 cas. Les taux d'incidence standardisés monde sont respectivement de 3,7 et 2,7 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et la femme en 2018 en France métropolitaine (rapport hommes/femmes égal à 1,4). L'âge médian de survenue du LH est de 33 ans chez la femme et de 38 ans chez l'homme. Les taux d'incidence augmentent entre 1990 et 2018 de 1,2 % en moyenne par an chez l'homme et de 1,7 % chez la femme. La majeure partie de cette tendance à la hausse est attribuable à une augmentation du risque alors qu'une faible partie est due à des changements démographiques (Le Guyader-Peyrou et coll., 2019).

Résumé de l'expertise collective Inserm de 2013

Les données épidémiologiques concernant le lien entre pesticides et le LH sont très peu nombreuses par rapport aux LNH.

Entre 1992 et 2009, 4 méta-analyses ont été publiées : une d'entre elles concerne spécifiquement le LH et les trois autres traitent de l'ensemble des cancers. Trois méta-analyses portent sur une exposition dans le secteur professionnel agricole et une concerne l'exposition de travailleurs en industrie de production de pesticides. Les résultats des méta-analyses soulignent toutes un excès de risque de survenue de LH allant de 9 % à 25 % chez les professionnels exposés aux pesticides comparés à la population générale, cette augmentation de risque n'atteint toutefois le seuil de significativité statistique que dans 2 méta-analyses sur les 4. Ces méta-analyses ne sont pas totalement indépendantes (réactualisation) et un bon nombre d'études épidémiologiques se retrouvent dans plusieurs d'entre elles. Notons que la combinaison des études portant sur des femmes n'a pas montré d'augmentation significative de risque.

Au sein de la cohorte AHS, l'incidence du LH chez les exploitants agricoles applicateurs de pesticides, chez les applicateurs professionnels, et chez leurs conjoints, exposés aux pesticides dans leur ensemble, n'est pas différente de celle de la population générale.

Sur les neuf autres études de cohortes, l'étude européenne qui fournit des données de suivi de 15 millions d'individus provenant de 5 pays nordiques (Suède, Norvège, Islande, Danemark et Finlande) a montré une très légère augmentation d'incidence de maladie de Hodgkin chez les agriculteurs de sexe masculin et une augmentation plus forte et statistiquement significative chez les agricultrices. Aucune des autres études européennes (Italie, Grande-Bretagne et Irlande) n'a présenté d'augmentation significative de risque de LH chez les utilisateurs de pesticides et travailleurs dans le secteur agricole. Une des deux études nord-américaines a mentionné une diminution (non significative) de risque de LH chez des agriculteurs canadiens alors que l'autre indique un risque accru de façon non significative de mortalité au sein d'une cohorte d'applicateurs de pesticides aériens.

Les données épidémiologiques disponibles ciblant des substances actives sont rares. Elles portent sur des nombres de cas extrêmement faibles et sont insuffisantes pour conclure quant aux risques de LH que pourraient présenter certaines des substances actives.

C'est ainsi qu'à partir des données disponibles en 2013, l'expertise collective Inserm de 2013 (Inserm, 2013) avait conclu à la présomption faible (±) d'un lien entre l'exposition aux pesticides, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, dans le secteur professionnel agricole et le risque de survenue de LH.

Nouvelles données épidémiologiques

Depuis la précédente édition de l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, une méta-analyse spécifiquement centrée sur l'exposition au glyphosate a été publiée. De même, une mise à jour de la cohorte AHS a également été publiée sur l'exposition au glyphosate. Enfin, une étude cas-témoins canadienne a investigué les facteurs de risque du LH et en particulier le rôle de l'exposition aux pesticides.

Méta-analyses

Une méta-analyse portant spécifiquement sur le glyphosate (Chang et Delzell, 2016) étudie conjointement 2 études cas-témoins publiées entre 2009 et 2012 et ne met pas en évidence d'association entre le risque de LH et l'exposition au glyphosate chez les agriculteurs (mOR = 1,1 [0,7-1,6]). Pour autant, les données disponibles reposent sur de faibles effectifs (6 cas pour l'une et 38 cas pour l'autre).

Cohortes

Une ré-analyse plus récente de la cohorte AHS (Andreotti et coll., 2018) s'adresse spécifiquement à l'exposition au glyphosate et ne met pas en évidence d'association avec le LH. Les données reposent sur un effectif limité de cas exposés, ce qui ne permet pas de conclure définitivement car l'étude manque de puissance.

Cas-témoins

Une étude cas-témoins réalisée au Canada à partir de 316 cas et 1 506 témoins en population générale (Karunanayake et coll., 2012) ne retrouve pas d'association entre le risque de LH et l'exposition aux principaux pesticides étudiés excepté au chlorpyrifos (OR = 4,4 [1,3-14,7]) mais ce résultat repose sur 6 exposés chez les cas (1,9 %) et 6 exposés chez les témoins (0,4 %). Aucun effet dose n'a été observé. Une seconde analyse de cette étude a été publiée (Navaranjan et coll., 2013) pour prendre en compte la notion d'exposition multiple aux pesticides et orienter l'analyse sur les pesticides classés comme potentiellement ou probablement cancérogènes par le Circ. Le risque de LH est élevé chez les sujets ayant déclaré avoir utilisé au moins cinq insecticides (OR = 1,9 [0,9-3,8]) et, de façon plus marquée, chez les sujets de moins de 40 ans ayant déclaré avoir utilisé deux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (OR = 3,2 [1,0-9,3]). D'autres risques élevés de LH sont observés en lien avec l'exposition aux fongicides chez les sujets de moins de 40 ans. Un risque élevé était associé à l'utilisation d'au moins trois

pesticides classés probablement cancérogènes par le Circ chez l'être humain (OR = 2,5 [1,1-5,8]), mais sans augmentation du risque associé à l'utilisation de pesticides possiblement cancérogènes (classement du Circ).

Conclusion

La littérature scientifique publiée depuis 2013 est relativement peu abondante avec seulement trois études dont une méta-analyse (basée sur deux études cas-témoins) et une mise à jour de la cohorte AHS, toutes deux centrées sur l'exposition au glyphosate et basées sur des effectifs faibles, qui ne montrent aucune association avec l'exposition au glyphosate. La troisième étude est une étude cas-témoins canadienne en population générale qui montre une association avec le chlorpyrifos et repose également sur de faibles effectifs. Une seconde analyse de cette étude rapporte un risque élevé de LH associé à l'utilisation d'au moins trois pesticides classés comme « probablement cancérogènes » chez l'être humain par le Circ. Enfin, le risque chez les sujets de moins de 40 ans ayant déclaré avoir utilisé deux inhibiteurs de l'acétylcholinestérase était également augmenté significativement.

En conséquence, la présomption d'un lien entre exposition professionnelle aux pesticides et LH n'est pas modifiée (tableau 11.V).

Tableau 11.V : Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et lymphome de Hodgkin

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Professionnels du secteur agricole	±

± d'après les résultats de 4 méta-analyses et d'une cohorte prospective (AHS) en 2013 ; et d'une méta-analyse (deux études cas-témoins), de la mise à jour de la cohorte AHS et d'une étude cas-témoins canadienne

Leucémies

Les leucémies sont des prolifération monoclonales de cellules du tissu hématopoïétique (tel que la moelle osseuse), bloquées à différents stades de différenciation et circulant dans le sang. Le type de leucémie dépend du type de cellule sanguine transformée (lymphoïde/myéloïde) et de la croissance rapide ou lente de cette dernière (leucémie aiguë ou chronique). Au sein de chaque groupe de leucémies (lymphoïde ou myéloïde), de nombreux sous-types sont identifiés selon des données morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cliniques.

La leucémie survient le plus souvent chez les adultes de plus de 55 ans, mais il s'agit également du cancer le plus répandu chez les enfants de moins de 15 ans (voir chapitre « Cancers de l'enfant »). Les deux types les plus fréquents de leucémie sont la leucémie lymphoïde chronique regroupée aujourd'hui avec le lymphome lymphocytique (LLC/LL) en une seule entité (respectivement 4 et 2 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et la femme en 2018 en France ; 4 700 nouveaux cas en 2018) et la leucémie aiguë myéloïde (LAM) (respectivement 3 et 2 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et la femme en 2018 en France ; 3 450 nouveaux cas en 2018). D'autres formes sont plus rares comme la leucémie/lymphome lymphoblastique à cellules précurseurs (900 nouveaux cas en France en 2018), leucémie myéloïde chronique (870 nouveaux cas en 2018), ou la leucémie à tricholeucocytes (300 nouveaux cas en 2018). Les tendances de l'incidence sont à la hausse pour la leucémie aiguë myéloïde (LAM) (variation annuelle moyenne d'environ +1 % dans les deux sexes) et la leucémie à tricholeucocytes chez l'homme (cette leucémie rare étant 5 fois plus fréquente chez l'homme que chez la femme) (Le Guyader-Peyrou et coll., 2019).

La classification internationale des hémopathies malignes publiée et mise à jour régulièrement par l'OMS intègre des données morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cliniques dans le but de définir des entités biologiquement homogènes et cliniquement pertinentes (Swerdlow et coll., 2017). Le classement des leucémies est basé sur l'appartenance des blastes à une lignée lymphoïde ou myéloïde. Or la littérature épidémiologique sur les facteurs de risque n'a pas toujours distingué ces différentes entités. C'est pour cette raison que cette partie distincte a été conservée dans la présente expertise. Pour autant, les principales études depuis 2013 font bien la distinction entre les différents types de leucémies et la plupart des analyses présentées dans cette partie concernent soit les leucémies lymphoïdes chroniques aujourd'hui regroupées avec les LNH et les leucémies aiguës myéloïdes qui représentent la forme la plus fréquente des leucémies myéloïdes. La leucémie à tricholeucocytes, un sous-type de leucémie rare, regroupé avec les hémopathies lymphoïdes et connu depuis plusieurs décennies, a fait l'objet de quelques études. On assiste aujourd'hui à la publication d'études portant soit sur des entités de leucémies spécifiques, soit sur des substances actives spécifiques, soit un croisement des deux.

Résumé de l'expertise collective Inserm de 2013

Les données épidémiologiques concernant le lien entre pesticides et leucémies regroupent sept méta-analyses publiées entre 1992 et 2009 (3 sur

l'exposition dans le secteur professionnel agricole, 2 dans le secteur industriel de production de pesticides et 2 dans le secteur professionnel agricole et non agricole). Ces études rapportent une augmentation du risque de survenue de leucémies allant de 7 % à 43 % chez les professionnels exposés aux pesticides comparé à la population générale. Dans trois des sept méta-analyses, cette augmentation de risque était statistiquement significative, les résultats étaient à la limite du seuil de significativité statistique dans deux autres, et l'augmentation du risque était non significative pour les deux dernières. La plus forte augmentation du risque a été observée pour les travailleurs en industrie de production de pesticides avec un excès de risque de survenue de leucémies de 43 %.

Les résultats de ces différentes méta-analyses ne sont pas convergents, que l'on considère le type de leucémie étudié, le groupe d'exposition (agriculteur, industriel) ou le type d'étude épidémiologique (cas-témoins, cohortes). Par exemple, sur les 4 méta-analyses ayant combiné les études de cohortes, deux ont montré une augmentation statistiquement significative du risque alors que les deux autres non. Par ailleurs, la forte hétérogénéité existant entre les enquêtes épidémiologiques requiert une grande prudence dans l'interprétation des résultats.

Au sein de la cohorte AHS, l'incidence et la mortalité par leucémies observées chez les exploitants agricoles applicateurs de pesticides, les applicateurs professionnels, et chez leurs conjoints, exposés aux pesticides dans leur ensemble, ne sont pas statistiquement différentes de celles de la population générale. Cependant, quand ces valeurs sont exprimées par rapport au taux d'incidence global tous cancers (incidence relative) ou par rapport au taux de mortalité toutes causes (mortalité relative) une augmentation statistiquement significative de la mortalité est rapportée.

Les études de cohortes autres que celles de l'AHS étudiant le lien entre une exposition aux pesticides tous types confondus et les leucémies sont nombreuses en Europe, Amérique du Nord, Amérique centrale et Australie. La plus importante étude européenne fournit des données de suivi de 15 millions d'individus de cinq pays nordiques : Suède, Norvège, Islande, Danemark et Finlande. Cette étude n'a pas montré d'augmentation d'incidence de leucémies chez les agriculteurs (hommes ou femmes) ni chez les jardiniers. En France, un risque significativement augmenté de décès par suite de leucémies a été observé chez des agriculteurs et ouvriers agricoles et une augmentation non significative a été observée chez des travailleurs dans la lutte contre les nuisibles en milieu urbain. La grande majorité des études européennes, soit neuf études, émanent d'Italie. Aucune augmentation de risque de leucémies chez les travailleurs agricoles ou utilisateurs de pesticides possédant une

licence pour l'achat et l'utilisation de pesticides toxiques n'est apparue dans les trois études d'Italie du Nord à l'exception d'une légère augmentation non significative observée chez les femmes et plus spécifiquement pour la forme myéloïde de leucémies.

Il est très difficile de conclure à partir des études de cohortes disponibles (AHS et autres) quant à l'existence d'une association entre l'exposition aux pesticides, tous types confondus, et la survenue de leucémies. Les raisons principales sont le peu de cohérence existant entre les résultats de ces études et leur manque de puissance. Les tendances qui semblent néanmoins ressortir sont une augmentation de risque surtout observée dans les études de mortalité qui sont nettement plus nombreuses que les études d'incidence. Il n'est pas exclu que cette augmentation puisse davantage concerner les leucémies de type myéloïde mais les différences avec le type lymphoïde semblent peu marquées. Dans la majorité des études prenant en compte le sexe, un risque plus élevé a été rapporté chez les femmes exposées par rapport au risque observé chez les hommes. À partir de ces données, l'expertise collective Inserm de 2013 (Inserm, 2013) avait conclu à la présomption moyenne (+) d'un lien entre l'exposition aux pesticides, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, dans le secteur professionnel agricole et le risque de survenue de leucémie.

Une approche par famille chimique permettait de faire ressortir les principales tendances et de pouvoir identifier les substances actives potentiellement concernées et mettait en évidence des niveaux de présomption moyens pour des organochlorés, des organophosphorés et des carbamates/thiocarbamates/dithiocarbamates (voir addenda en fin de chapitre : tableau A11.III).

Nouvelles données épidémiologiques

Trois méta-analyses ont été publiées dont deux réalisées à partir des données de trois cohortes d'agriculteurs (AHS, AGRICAN, CNAP) et portant sur l'exposition à plusieurs familles de pesticides, tandis que la troisième s'adresse spécifiquement à l'exposition au glyphosate à partir de trois études cas-témoins. Deux mises à jour de la cohorte AHS ont été publiées, une porte sur un large panel de substances actives tandis que l'autre est focalisée sur l'exposition professionnelle au glyphosate. Enfin, les analyses poolées réalisées dans le cadre du consortium *InterLymph* portent sur les principaux facteurs de risque analysés simultanément dont la profession d'agriculteur, sur le risque des leucémies lymphoïdes (LLC, LAL, leucémie à tricholeucocytes).

Méta-analyse

Une méta-analyse récemment publiée par le consortium des cohortes d'agriculteurs, Agricoh (Leon et coll., 2019) étudie le rôle de l'exposition (de façon binaire : oui/non) entre 14 familles de pesticides et 33 substances actives et le risque des principaux sous-types d'hémopathies lymphoïdes dont la leucémie lymphoïde chronique/lymphome lymphocytique (LLC/LL). Les auteurs observent une association positive entre l'exposition à la deltaméthrine mRR = 1,5 [1,1-2,1] et la LLC/LL. À partir des trois cohortes évoquées ci-dessus, une autre méta-analyse du consortium Agricoh (El-Zaemey et coll., 2019) examine le risque d'hémopathies malignes chez les éleveurs et ne montre aucune association avec la LLC/LL. Une autre méta-analyse portant spécifiquement sur le glyphosate, publiée en 2016 (Chang et Delzell, 2016), étudie conjointement les données de 3 études cas-témoins publiées entre 1990 et 2009 et ne met pas en évidence d'association entre le risque de LLC et l'exposition au glyphosate chez les agriculteurs (mOR = 1,0 [0,6-1,5]). En revanche, les deux études rapportant des associations entre une utilisation de glyphosate et le risque de leucémie à tricholeucocytes montrent un risque élevé non statistiquement significatif compte tenu des faibles effectifs (mOR = 2,5 [0,9-7,3]).

Une méta-analyse publiée en 2021 (Foucault et coll., 2021) a étudié l'exposition professionnelle aux pesticides et le risque de survenue de leucémie aiguë myéloïde (LAM) (3 955 cas et 9 948 témoins provenant de 14 études cas-témoins). Cette analyse reprend en grande majorité les études cas-témoins analysées dans la méta-analyse de Van Maele-Fabry et coll. (2007) déjà prise en compte dans l'expertise collective de 2013 et qui ne montrait pas d'augmentation de risque pour les LAM, auxquelles s'ajoutent 5 études plus récentes publiées entre 2009 et 2017. Les deux études les plus récentes ne montraient pas non plus d'augmentation de risque (Parodi et coll., 2017 ; Poynter et coll., 2017). Cette méta-analyse montre que l'exposition professionnelle aux pesticides est associée à une augmentation du risque de LAM (OR = 1,5 ; IC 95 % [1,1-2,1]) avec une forte hétérogénéité entre études (I^2 = 76 %, p < 0,001). Bien qu'il n'existe pas d'argument statistique pour conclure à un biais de publication, les auteurs évoquaient un potentiel biais de publication par la représentation de forme asymétrique du graphique en entonnoir. Une meilleure caractérisation de l'exposition aux pesticides et des études de plus grandes tailles sont nécessaires pour confirmer ce résultat.

Cohortes

La cohorte AHS a été ré-analysée et publiée en 2014 par Alavanja en distinguant 26 familles de pesticides ou substances actives (Alavanja et coll.,

2014). Cette analyse présente également les résultats pour cinq sous-types d'hémopathies lymphoïdes fréquents dont une entité regroupant la leucémie lymphoïde chronique, le lymphome lymphocytique et le lymphome à cellules du manteau (LLC/LL/LCM). L'exposition au terbufos (RR = 1,4 [1,0-2,0]) est positivement associée aux LLC/LL/LCM avec augmentation des risques avec le nombre total de jours d'utilisation (RR = 1,0 (réf), RR = 1,3 [0,8-2,0], RR = 1,6 [1,0-2,5], p de tendance = 0,05). Ces observations persistent après ajustements mutuels. De même, l'exposition au DDT est positivement associée au risque de LLC/LL/LCM avec une tendance significative des risques qui augmentent avec le nombre total de jours d'exposition (RR = 1,0 (réf), RR = 1,0 [0,5-1,8], RR = 2,6 [1,3-4,8], p de tendance = 0,04). Deux autres substances actives sont associées à des risques élevés de LLC/LL/LCM sans effet-dose identifié : le métalaxyl et le chlordane (RR = 1,6 [1,0-2,5] ; RR = 1,4 [1,0-2,0]). Cette analyse par substance active et sous-type d'hémopathies malignes a pour conséquence que la majorité des associations identifiées reposent sur un petit nombre d'exposés.

Une analyse récente de la cohorte AHS (Andreotti et coll., 2018) s'adresse spécifiquement à l'exposition au glyphosate et ne met pas en évidence de risque élevé avec la LLC. En revanche, le risque de LAM était accru parmi les applicateurs du quartile d'exposition le plus élevé par rapport aux non-utilisateurs (RR = 2,4 [0,9-6,3], p de tendance = 0,1). Les résultats étaient comparables en utilisant une fenêtre d'exposition de cinq ans (RR quartile 4 = 2,3 [1,0-5,5], p de tendance = 0,07) et de 20 ans (RR tercile 3 = 2,0 [1,0-4,0], p de tendance = 0,04).

Cas-témoins

Une analyse simultanée des principaux facteurs de risque, réalisée par sous-type d'hémopathie lymphoïde, a été publiée en 2014 par le consortium *InterLymph* sous la forme d'une monographie dans le *Journal of the National Cancer Institute* (Morton et coll., 2014a). Il présentait une analyse spécifique de trois leucémies lymphoïdes : la leucémie lymphoïde chronique/lymphome lymphocytique (LLC/LL) (2 440 cas et 15 186 témoins provenant de 13 études cas-témoins ; Slager et coll., 2014), de la leucémie à tricholeucocytes (154 cas et 8 834 témoins provenant de 5 études cas-témoins ; Monnereau et coll., 2014) et de la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) (152 cas et 23 096 témoins provenant de 16 études cas-témoins ; Skibola et coll., 2014). Dans ces analyses, le métier d'agriculteur n'était pas associé au risque de LLC/LL ni au risque de LAL. En revanche, il était associé positivement au risque de leucémie à tricholeucocytes (mOR = 2,3 [1,4-4,0], avec une relation dose-réponse observée avec la durée dans ce métier (OR = 1,8 [0,9-3,9]

pour ≤ 10 ans comparé à la référence : aucun emploi agricole) et OR = 3,0 [1,5-5,9] pour > 10 ans *versus* référence ; p de tendance = 0,025). Les associations observées restaient comparables en prenant en compte les facteurs de confusion potentiels.

Conclusion

Depuis 2013, trois méta-analyses ont été publiées : deux réalisées à partir des données de trois cohortes d'agriculteurs (AHS, AGRICAN, CNAP), la troisième s'adressant spécifiquement à l'exposition au glyphosate (trois études cas-témoins). Deux mises à jour de la cohorte AHS ont été publiées, une porte sur un large panel de substances actives tandis que l'autre est focalisée sur l'exposition professionnelle au glyphosate. Enfin, les analyses poolées réalisées dans le cadre du consortium *InterLymph* portent sur les principaux facteurs de risque analysés simultanément dont la profession d'agriculteur, sur le risque des leucémies lymphoïdes (LLC, LAL, leucémie à tricholeucocytes).

Au regard des résultats de ces études, qui rapportent toutes des associations entre le métier d'agriculteur et/ou l'utilisation de substances particulières et le risque de leucémies, la présomption d'un lien entre exposition professionnelle aux pesticides et leucémies reste moyenne (tableau 11.VI).

Tableau 11.VI : Présomption d'un lien entre exposition professionnelle aux pesticides et leucémies

Exposition	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Pesticides (sans distinction)	Agriculteurs, applicateurs, ouvriers en industrie de production	+

+ d'après les résultats de 7 méta-analyses et d'une cohorte prospective (AHS) (2013) et de deux méta-analyses

Chacune des études publiées depuis 2013 distingue le type de leucémie étudiée et porte principalement sur les plus fréquentes (LLC/LL, LAM) mais aussi sur des sous-types plus rares, anciennement étudiés, comme la leucémie à tricholeucocytes. Des éléments de preuve sont observés concernant la LLC/LL : une association avec l'exposition professionnelle à la deltaméthrine à partir d'une méta-analyse de trois cohortes (sans information sur un éventuel effet-dose) ; une association avec le terbufos avec une tendance des risques qui s'élève avec le nombre de jours total d'exposition (cohorte AHS) ; une association avec le DDT chez les plus fortement exposés (cohorte AHS). La majorité des associations identifiées reposent sur des petits nombres de sujets exposés. Aucune association n'est observée avec le glyphosate ainsi qu'avec

la plupart des substances évaluées. Concernant la LAM, une association positive avec l'utilisation de glyphosate est suggérée (cohorte AHS), ainsi qu'avec l'exposition professionnelle aux pesticides (méta-analyse des études cas-témoins). Malgré des effectifs faibles liés à la rareté de la leucémie à tricholeucocytes, le risque d'occurrence de ce type de leucémie est augmenté chez les agriculteurs (*InterLymph*) et chez ceux qui ont été exposés au glyphosate, bien que de façon non statistiquement significative (tableau 11.VII).

Tableau 11.VII : Familles et substances actives impliquées dans les excès de risques significatifs de leucémies

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Organochlorés (sans distinction)	Applicateurs	+
Lindane	Applicateurs	+
DDT	Applicateurs	+
Heptachlore	Applicateurs	+
Chlordane + heptachlore	Applicateurs	+
Toxaphène	Agriculteurs	+
Organophosphorés		
Chlorpyrifos	Applicateurs	+
Diazinon	Applicateurs	+
Fonofos	Applicateurs	+
Malathion	Agricultrices	+
Terbufos	Applicateurs	+
Carbamates/Thiocarbamates /Dithiocarbamates		
S-éthyl-dipropylthiocarbamate (EPTC)	Applicateurs	+
Mancozèbe	Agriculteurs	+
Pyréthrinoïdes		
Deltaméthrine	Agriculteurs	+ [a]
Chloroacétanilides		
Alachlore	Ouvriers en industrie de production	+
Aminophosphonate glycine		
Glyphosate	Agriculteurs	±

+ d'après les résultats d'une cohorte ou d'une étude cas-témoins nichée ; + [a] d'après les résultats de la méta-analyse de trois cohortes d'agriculteurs (Agricoh) Données nouvelles
± d'après les résultats suggérés pour les LAM dans une cohorte Données nouvelles
NB : Les études de cohortes et les études cas-témoins nichées ont été analysées par famille et par substance active mais pas les études cas-témoins.

Addenda

Tableau A11.I : Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque significatifs de LNH en 2013

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque significatif	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Sans distinction	Agriculteurs	±
Lindane (γ HCH)	Applicateurs ; Agriculteurs	++
	Éleveurs (HCH)	+
	Exposition professionnelle	±
DDT	Agriculteurs	++
	Exposition professionnelle	+
	Personnes exposées	±
Chlordane	Éleveurs	±
Aldrine	Exposition professionnelle	±
DDT + Malathion	Exposition professionnelle	±
Organophosphorés		
Sans distinction	Agriculteurs	++
	Personnes exposées	+
	Exposition professionnelle	±
Terbufos	Applicateurs	+
Diazinon	Agriculteurs	+
Malathion	Agriculteurs	++
	Personnes exposées	±
	Exposition professionnelle	±
Coumaphos	Agriculteurs	±
Chlorpyrifos	Agriculteurs	±
Fonofos	Agriculteurs	±
Carbamates/Dithiocarbamates		
Sans distinction carbamates	Agriculteurs	+
	Exposition professionnelle	±
Carbaryl	Agriculteurs	±
	Exposition professionnelle	±
Carbofuran	Agriculteurs	±
Carbaryl + malathion	Exposition professionnelle	±
Butilate	Applicateurs	+
	Agriculteurs	±
Triazines		
Sans distinction	Agriculteurs	±
	Ouvriers en industrie de production	+
Atrazine	Agriculteurs	±
Phénoxyherbicides non contaminés		
2,4-D	Agriculteurs	+
	Exposition professionnelle	±
2,4-D + malathion	Exposition professionnelle	±
MCPA	Exposition professionnelle	±
Mécoprop	Exposition professionnelle	±
Mécoprop + malathion	Exposition professionnelle	±
Aminophosphonate glycine		
Glyphosate	Agriculteurs	±
	Exposition professionnelle	+
Glyphosate + malathion	Exposition professionnelle	±

++ d'après les résultats de plusieurs études de cohortes ou d'au moins une étude de cohorte et deux cas-témoins ou de plus de deux études cas-témoins
+ d'après les résultats d'une cohorte ou d'une étude cas-témoins nichée ou de deux études cas-témoins
± d'après les résultats d'une étude cas-témoins

Tableau A11.II : Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque significatifs de LNH dans des groupes de population particulière en 2013

Famille Substances actives	Groupe de population particulière concernée par un excès de risque significatif	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Sans distinction	Agriculteurs t(14 ;18), personnes avec antécédents familiaux de cancers hématopoïétiques	±
Lindane	Agriculteurs asthmatiques Agriculteurs t(14 ;18)	± +
DDT	Exposés asthmatiques, exposés allergiques	±
Chlordane	Agriculteurs asthmatiques	±
Dieldrine	Agriculteurs t(14 ;18)	±
Toxaphène	Agriculteurs t(14 ;18)	±
Organophosphorés		
Sans distinction	Agriculteurs t(14 ;18)	±
Carbamates/Thiocarbamates/ Dithiocarbamates		
Sans distinction carbamates	Agriculteurs t(14 ;18)	±
Triazines		
Sans distinction	Agriculteurs t(14 ;18)	±
Atrazine	Agriculteurs t(14 ;18)	±
Cyanazine	Agriculteurs asthmatiques	±
Pyréthrinoïdes		
Pyréthrinoïdes (sans distinction)	Agriculteurs t(14 ;18)	±

+ d'après les résultats de deux études cas-témoins
± d'après les résultats d'une étude cas-témoins

Tableau A11.III : Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque significatifs de leucémies en 2013

Famille Substances actives	Populations concernées par un excès de risque significatif	Présomption d'un lien
Organochlorés		
Organochlorés (sans distinction)	Applicateurs	+
Lindane	Applicateurs	+
Heptachlore	Applicateurs	+
Chlordane + heptachlore	Applicateurs	+
Toxaphène	Agriculteurs	+
Organophosphorés		
Chlorpyrifos	Applicateurs	+
Diazinon	Applicateurs	+
Fonofos	Applicateurs	+
Malathion	Agricultrices	+
Terbufos	Applicateurs	+
Carbamates/Thiocarbamates/ Dithiocarbamates		
EPTC (S-éthyl-dipropylthiocarbamate)	Applicateurs	+
Mancozèbe	Agriculteurs	+
Chloroacétanilides		
Alachlore	Ouvriers en industrie de production	+

+ d'après les résultats d'une cohorte ou d'une étude cas-témoins nichée
NB : Les études de cohortes et les études cas-témoins nichées ont été analysées par famille et par substance active mais pas les études cas-témoins

RÉFÉRENCES

• Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

•• Étude financée par un industriel des phytosanitaires

Alavanja MCR, Hofmann JN, Lynch CF, *et al.* Non-hodgkin lymphoma risk and insecticide, fungicide and fumigant use in the agricultural health study. *PLoS One* 2014 ; 9 : e109332.

Andreotti G, Koutros S, Hofmann JN, *et al.* Glyphosate use andcCancer incidence in the Agricultural Health Study. *J Natl Cancer Inst* 2018 ; 110 : 509-16.

Bassig BA, Shu X-O, Sjodin A, *et al.* Pre-diagnostic blood levels of organochlorines and risk of non-Hodgkin lymphoma in three prospective cohorts in China and Singapore. *Int J Cancer* 2019.

Bonner MR, Williams BA, Rusiecki JA, *et al.* Occupational exposure to terbufos

and the incidence of cancer in the Agricultural Health Study. *Cancer Causes Control* 2010 ; 21 : 871-7.

Burns CJ, Beard KK, Cartmill JB. Mortality in chemical workers potentially exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1945-94: an update. *Occup Environ Med* 2001 ; 58 : 24-30. •

Cantor KP, Blair A, Everett G, *et al.* Pesticides and other agricultural risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men in Iowa and Minnesota. *Cancer Res* 1992 ; 52 : 2447-55.

Chang ET, Delzell E. Systematic review and meta-analysis of glyphosate exposure and risk of lymphohematopoietic cancers. *J Environ Sci Health B* 2016 ; 51 : 402-34. ••

Cocco P, Satta G, Dubois S, *et al.* Lymphoma risk and occupational exposure to pesticides: results of the Epilymph study. *Occup Environ Med* 2013 ; 70 : 91-8.

Czarnota J, Gennings C, Colt JS, *et al.* Analysis of environmental chemical mixtures and non-Hodgkin lymphoma risk in the NCI-SEER NHL Study. *Environ Health Perspect* 2015 ; 123 : 965-70.

de Angelis R, Minicozzi P, Sant M, *et al.* Survival variations by country and age for lymphoid and myeloid malignancies in Europe 2000-2007: Results of EUROCARE-5 population-based study. *Eur J Cancer* 2015 ; 51 : 2254-68.

de Roos AJ, Blair A, Rusiecki JA, *et al.* Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 49-54.

de Roos AJ, Zahm SH, Cantor KP, *et al.* Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. *Occup Environ Med* 2003 ; 60 : E11.

Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, *et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Synthèse*. Saint-Maurice : Santé publique France, 2019 : 20 p., consulté le 20/02/20 : https://www.e-cancer.fr/content/download/266450/3759432/file/Synthese_Estimations%20nationales%20incidence%20et%20mortalite%20par%20cancer_juillet_2019.pdf

El-Zaemey S, Schinasi LH, Ferro G, *et al.* Animal farming and the risk of lympho-haematopoietic cancers: a meta-analysis of three cohort studies within the AGRICOH consortium. *Occup Environ Med* 2019 ; 76 : 827-37.

Ennaceur S. Study of the genotoxic and cytotoxic effects of the alpha-, beta-, and gamma- Hexachlorocyclohexane isomers in human lymphocyte cells using the cytokinesis-block micronucleus assay. *Drug Chem Toxicol* 2017 ; 40 : 85-9.

Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, *et al.* Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 2019 ; 144 : 1941-53.

Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, *et al*. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer* 2018 ; 103 : 356-87.

Foucault A, Vallet N, Ravalet N, *et al*. Occupational pesticide exposure increases risk of acute myeloid leukemia: a meta-analysis of case-control studies including 3,955 cases and 9,948 controls. *Sci Rep* 2021 ; 11 : 2007.

Goodman JE, Loftus CT, Zu K. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and non-Hodgkin's lymphoma: results from the Agricultural Health Study and an updated meta-analysis. *Ann Epidemiol* 2017 ; 27 : 290-292.e5. ••

Goodman JE, Loftus CT, Zu K. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and non-Hodgkin's lymphoma, gastric cancer, and prostate cancer: meta-analyses of the published literature. *Ann Epidemiol* 2015 ; 25 : 626-636.e4. ••

Guyton KZ, Loomis D, Grosse Y, *et al*. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology* 2015 ; 16 : 490-1.

Hohenadel K, Harris SA, McLaughlin JR, *et al*. Exposure to multiple pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma in men from six Canadian provinces. *Int J Environ Res Public Health* 2011 ; 8 : 2320-30.

Hu L, Luo D, Zhou T, *et al*. The association between non-Hodgkin lymphoma and organophosphate pesticides exposure: A meta-analysis. *Environ Pollut* 2017 ; 231 : 319-28.

IARC. *Some Organophosphate Insecticides and Herbicides*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Volume 112. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2017 : 464 p.

INRS. *Base de données Tableaux des Maladies Professionnelles Tableau n° 59 du régime agricole*, 2019 : 5 p., consulté le 20/02/20 :
http://www.inrs.fr/dms/tabmalpro/TableauTabMalPro/RA-59-1/TMP_RA %2059.pdf

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1001 p.

Kachuri L, Beane Freeman LE, Spinelli JJ, *et al*. Insecticide use and risk of non-Hodgkin lymphoma subtypes: a subset meta-analysis of the North American Pooled Project. *Int J Cancer* 2020.

Kachuri L, Demers PA, Blair A, *et al*. Multiple pesticide exposures and the risk of multiple myeloma in Canadian men. *Int J Cancer* 2013 ; 133 : 1846-58.

Karunanayake CP, Spinelli JJ, McLaughlin JR, *et al*. Hodgkin lymphoma and pesticides exposure in men: a Canadian case-control study. *J Agromedicine* 2012 ; 17 : 30-9.

Khan AJ, Sharma A, Dinesh K, *et al*. Similarities in lindane induced alteration in cytochrome P450s and associated signaling events in peripheral blood lymphocytes and brain. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 60 : 318-27.

Koutros S, Harris SA, Spinelli JJ, *et al*. Non-Hodgkin lymphoma risk and organophosphate and carbamate insecticide use in the north American pooled project. *Environ Int* 2019 ; 127 : 199-205.

Lamure S, Carles C, Aquereburu Q, *et al*. Association of occupational pesticide exposure with immunochemotherapy response and survival among patients with diffuse large B-cell lymphoma. *JAMA Netw Open* 2019 ; 2 : e192093.

Lasfargues G. Les lymphomes non hodgkiniens et les pesticides. *Bull Acad Natl Med* 2017 ; 201 : 1161-73.

Lasram MM, Lamine AJ, Dhouib IB, *et al*. Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. *Life Sci* 2014 ; 107 : 50-8.

Le Guyader-Peyrou S, Defossez G, Dantony E, *et al*. *Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 Volume 2 - Hémopathies malignes*. Saint-Maurice, France : Santé publique France, 2019.

Lemarchand C, Tual S, Leveque-Morlais N, *et al*. Cancer incidence in the AGRICAN cohort study (2005-2011). *Cancer Epidemiol* 2017 ; 49 : 175-85.

Leon M, Schinasi LH, Lebailly P, *et al*. Pesticide use and risk of non-Hodgkin lymphoid malignancies in agricultural cohorts from France, Norway, and the USA: a pooled analysis from the AGRICOH consortium. *Int J Epidemiol* 2019 ; 48 : 1519-35.

Luo D, Zhou T, Tao Y, *et al*. Exposure to organochlorine pesticides and non-Hodgkin lymphoma: a meta-analysis of observational studies. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 25768.

Michalowicz J, Mokra K, Rosiak K, *et al*. Chlorobenzenes, lindane and dieldrin induce apoptotic alterations in human peripheral blood lymphocytes (in vitro study). *Environ Toxicol Pharmacol* 2013 ; 36 : 979-88.

Mills PK, Yang R, Riordan D. Lymphohematopoietic cancers in the United Farm Workers of America (UFW), 1988-2001. *Cancer Causes Control* 2005 ; 16 : 823-30.

Monnereau A, Uhry Z, Bossard N, *et al*. *Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2013. partie 2 Hémopathies malignes*. Saint-Maurice, France : Institut de veille sanitaire, 2016 : 148 p.

Monnereau A, Slager SL, Hughes AM, *et al*. Medical history, lifestyle, and occupational risk factors for hairy cell leukemia: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2014 ; 2014 : 115-24.

Morton LM, Slager SL, Cerhan JR, *et al*. Etiologic heterogeneity among non-Hodgkin lymphoma subtypes: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2014a ; 2014 : 130-44.

Morton LM, Sampson JN, Cerhan JR, *et al*. Rationale and design of the international lymphoma epidemiology consortium (InterLymph) non-Hodgkin lymphoma subtypes project. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2014b : 1-14.

Navaranjan G, Hohenadel K, Blair A, *et al*. Exposures to multiple pesticides and the risk of Hodgkin lymphoma in Canadian men. *Cancer Causes Control* 2013 ; 24 : 1661-73.

Ojha A, Gupta YK. Evaluation of genotoxic potential of commonly used organophosphate pesticides in peripheral blood lymphocytes of rats. *Hum Exp Toxicol* 2015 ; 34 : 390-400.

Ojha A, Srivastava N. In vitro studies on organophosphate pesticides induced oxidative DNA damage in rat lymphocytes. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2014 ; 761 : 10-7.

Pahwa M, Beane Freeman LE, Spinelli JJ, *et al.* Glyphosate use and associations with non-Hodgkin lymphoma major histological sub-types: findings from the North American Pooled Project. *Scand J Work Environ Health* 2019 ; 45 : 600-9.

Parodi S, Merlo DF, Stagnaro E ; Working Group for the Epidemiology of Hematolymphopoietic Malignancies in Italy. Coffee and tea consumption and risk of leukaemia in an adult population: A reanalysis of the Italian multicentre case-control study. *Cancer Epidemiol.* 2017 ; 47 : 81-7.

Perrotta C, Kleefeld S, Staines A, *et al.* Multiple myeloma and occupation: a pooled analysis by the International Multiple Myeloma Consortium. *Cancer Epidemiol* 2013 ; 37 : 300-5.

Poynter JN, Richardson M, Roesler M, *et al.* Chemical exposures and risk of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in a population-based study. *Int J Cancer* 2017 ; 140 : 23-33.

Presutti R, Harris SA, Kachuri L, *et al.* Pesticide exposures and the risk of multiple myeloma in men: An analysis of the North American Pooled Project. *Int J Cancer* 2016 ; 139 : 1703-14.

Purdue MP, Hoppin JA, Blair A, *et al.* Occupational exposure to organochlorine insecticides and cancer incidence in the Agricultural Health Study. *Int J Cancer* 2007 ; 120 : 642-9.

Schinasi L, Leon M. Non-Hodgkin lymphoma and occupational exposure to agricultural pesticide chemical groups and active ingredients: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2014 ; 11 : 4449-527.

Schinasi LH, de Roos AJ, Ray RM, *et al.* Insecticide exposure and farm history in relation to risk of lymphomas and leukemias in the Women's Health Initiative observational study cohort. *Ann Epidemiol* 2015 ; 25 : 803-10.

Schroeder JC, Olshan AF, Baric R, *et al.* Agricultural risk factors for t(14 ;18) subtypes of non-Hodgkin's lymphoma. *Epidemiology* 2001 ; 12 : 701-9.

Shearer JJ, Freeman LEB, Liu D, *et al.* Longitudinal investigation of haematological alterations among permethrin-exposed pesticide applicators in the Biomarkers of Exposure and Effect in Agriculture study. *Occup Environ Med* 2019 ; 76 : 467-70.

Skibola CF, Slager SL, Berndt SI, *et al.* Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for adult acute lymphocytic leukemia: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2014 ; 2014 : 125-9.

Slager SL, Benavente Y, Blair A, *et al.* Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic

lymphoma: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2014 ; 2014 : 41-51.

Smith AM, Smith MT, La Merrill MA, *et al*. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and risk of non-Hodgkin lymphoma: a meta-analysis accounting for exposure levels. *Ann Epidemiol* 2017 ; 27 : 281-289.e4.

Sorahan T. Multiple myeloma and glyphosate use: a re-analysis of US Agricultural Health Study (AHS) data. *Int J Environ Res Public Health* 2015 ; 12 : 1548-59. ••

Swerdlow, SH, Campo, E, Harris, NL, *et al., eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon : International Agency for Research on Cancer, 2017 : 1583 p.

Swerdlow, SH, Campo, E, Harris, N, *et al., eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon : International Agency for Research on Cancer, 2008 : 439 p.

Tual S, Busson A, Boulanger M, *et al*. Occupational exposure to pesticides and multiple myeloma in the AGRICAN cohort. *Cancer Causes Control* 2019 ; 30 : 1243-50.

Van Maele-Fabry G, Duhayon S, Lison D. A systematic review of myeloid leukemias and occupational pesticide exposure. *Cancer Causes Control* 2007 ; 18 : 457-78.

Zeinali M, Meybodi NT, Rezaee SA, *et al*. Protective effects of chrysin on sub-acute diazinon-induced biochemical, hematological, histopathological alterations, and genotoxicity indices in male BALB/c mice. *Drug Chem Toxicol* 2018 ; 41 : 270-80.

Zhang L, Rana I, Shaffer RM, *et al*. Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis and supporting evidence. *Mutat Res* 2019 ; 781 : 186-206.

Zhang X, Wallace AD, Du P, *et al*. DNA methylation alterations in response to pesticide exposure in vitro. *Environ Mol Mutagen* 2012a ; 53 : 542-9.

Zhang X, Wallace AD, Du P, *et al*. Genome-wide study of DNA methylation alterations in response to diazinon exposure in vitro. *Environ Toxicol Pharmacol* 2012b ; 34 : 959-68.

Zheng R, Zhang Q, Zhang Q, *et al*. Occupational exposure to pentachlorophenol causing lymphoma and hematopoietic malignancy for two generations. *Toxicol Ind Health* 2015 ; 31 : 328-42.

Zheng T, Zahm SH, Cantor KP, *et al*. Agricultural exposure to carbamate pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma. *J Occup Environ Med* 2001 ; 43 : 641-9.

12
Cancer de la prostate

La prostate est une glande de l'appareil uro-génital masculin dont la sécrétion, qui représente 20 à 40 % du volume de l'éjaculat, contient des protéases qui servent à la liquéfaction de l'éjaculat et de la spermine qui stimule la motilité et la poursuite de la maturation des spermatozoïdes. Située sous la vessie elle entoure l'urètre et les canaux éjaculateurs. Cette glande est sujette, comme de nombreux autres organes, à une transformation tumorale qui se révèle être, dans plus de 90 % des cas, un adénocarcinome résultant de la multiplication de cellules cancéreuses dérivées de l'épithélium glandulaire (Mitchell et coll., 2015 ; Packer et coll., 2016).

Cancer de la prostate : de l'épidémiologie à la biologie

Incidence et mortalité

Le cancer de la prostate est encore de nos jours la pathologie tumorale non-cutanée la plus fréquente dans les pays développés chez l'homme. Son taux d'incidence[28] a augmenté de manière régulière au cours des décennies précédentes dans l'ensemble de ces pays. Une telle progression s'expliquerait, en grande partie, par le développement du diagnostic précoce individuel basé sur le dosage du PSA (*Prostate-Specific Antigen*). Depuis quelques années, dans certains pays et régions où l'incidence avait le plus augmenté, on assiste à une moindre progression, voire à une stabilisation ou à une diminution de l'incidence (- 3,5 % par an entre 2010 et 2015 en France) (Defossez et coll., 2019). Cela pourrait correspondre à la conjonction de deux phénomènes : la plus grande partie des cancers avancés ont déjà été diagnostiqués après plusieurs années de dépistage, et des stratégies plus attentistes de la part des

28. Le taux d'incidence correspond au nombre de nouveaux cas d'une pathologie pendant une période donnée et pour une population déterminée pendant cette même période – population cible. L'incidence s'exprime habituellement en nombre de cas rapporté pour 100 000 personnes et par année. Afin de permettre des comparaisons entre des populations de structure d'âge différentes, ce taux est standardisé sur l'âge d'une population de référence, habituellement la population mondiale.

soignants et de la population vis-à-vis du dépistage avec la prise de conscience d'un risque de « sur-diagnostic » (Schröder et coll., 2014). En France, avec un taux d'incidence de 81,5 pour 100 000 personnes-années soit environ 50 000 nouveaux cas par an en 2015, le cancer de la prostate est le plus fréquent, à la fois chez l'homme et dans l'ensemble de la population (Defossez et coll., 2019). Il est très rare avant 50 ans et son incidence augmente progressivement avec l'âge.

Concernant la mortalité[29], on observe, dans la plupart des pays développés, une diminution assez régulière, ce qui pourrait être expliqué par les avancées significatives sur le plan thérapeutique mais aussi, selon certains auteurs, par le dépistage individuel. En France, le taux de mortalité est de 7,9 pour 100 000 personnes-années, soit environ 8 000 décès par an (Jéhannin-Ligier et coll., 2017 ; Defossez et coll., 2019).

Si, dans les pays à revenus faibles ou intermédiaires, le taux d'incidence du cancer de la prostate est aujourd'hui inférieur à celui observé dans les pays à forts revenus, une augmentation est attendue dans les décennies à venir à cause des modifications démographiques (croissance de la population et allongement de l'espérance de vie) mais aussi de l'amélioration de l'accès au diagnostic dans ces pays (Adeloye et coll., 2016).

Étiologie et facteurs de risque

L'étiologie du cancer de la prostate est en grande partie inconnue. Néanmoins, un certain nombre de facteurs de risque sont bien identifiés. Il s'agit de l'âge – l'incidence augmentant de manière notoire entre la 5e et 6e décade de vie –, de la présence d'antécédents familiaux de cancer de la prostate et des origines ethno-géographiques.

Les formes familiales[30] sont observées dans environ 20 % des cas, et une transmission héréditaire compatible avec une transmission mendélienne est retrouvée dans 5 % des cas. Dans certaines formes familiales, l'association d'un cancer de la prostate avec un autre type de cancer suggère l'existence de gènes de prédisposition communs. Les autres formes familiales et sporadiques impliqueraient un mode d'hérédité polygénique ou multifactoriel (Cussenot et Cancel-Tassin, 2004).

29. La mortalité s'exprime habituellement en nombre de décès pour 100 000 personnes-année. Afin de permettre des comparaisons entre les populations, ce taux est standardisé sur l'âge d'une population de référence, habituellement la population mondiale.

30. Les formes familiales de cancer de la prostate sont habituellement définies par l'existence d'au moins 2 cas chez des apparentés du premier degré.

Le taux d'incidence du cancer de la prostate est très variable en fonction des origines ethno-géographiques des populations (Center et coll., 2012). Il est particulièrement élevé chez les hommes ayant des ascendants africains subsahariens (quels que soient les lieux de naissance), et particulièrement faibles chez les populations asiatiques. Ainsi, aux États-Unis, le taux d'incidence du cancer de la prostate dans la population afro-américaine est 1,6 fois plus élevée que dans les autres populations (respectivement 178,3 et 105,7 pour 100 000 personnes-années dans la population afro-américaine et caucasienne (Noone et coll., 2018). Chez les Caucasiens, le taux d'incidence est intermédiaire avec néanmoins des variations selon les pays. Ainsi, dans les pays du Nord de l'Europe, les taux d'incidence sont plus élevés que dans les pays du Sud de l'Europe. Les populations d'origine latine du continent américain présentent des taux d'incidence similaires à ceux observés dans les pays dits latins en Europe. Si de telles variations peuvent être expliquées en partie par des différences dans l'accès aux soins, les pratiques médicales et les politiques publiques en matière de dépistage, il est maintenant admis que des facteurs génétiques jouent un rôle déterminant. Ainsi, certains polymorphismes génétiques ont été associés à un risque individuel accru de cancer de la prostate et puisque leur fréquence varie selon les origines ethno-géographiques des populations ils pourraient contribuer à expliquer les importantes variations d'incidence (Chokkalingam et coll., 2007 ; Rebbeck, 2018). Certains polymorphismes sont spécifiques des populations d'ascendance africaine confirmant le rôle de la variation de la lignée germinale spécifiquement liée à l'ascendance, dans la contribution aux différences de population dans le risque de cancer de la prostate (Conti et coll., 2017).

Le développement de la glande prostatique est particulièrement influencé par les hormones stéroïdiennes dites sexuelles. Le cancer de la prostate est lui-même une pathologie tumorale hormono-dépendante. La maladie survient à partir de la 5^{e} décennie de la vie avec une augmentation progressive au cours de la 6^{e} et 7^{e} décennie pour ensuite s'infléchir. Les 5^{e} et 6^{e} décennies coïncident avec ce qu'on appelle le climatère masculin, c'est-à-dire un déclin des concentrations circulantes de certains androgènes et une augmentation de certains œstrogènes modifiant ainsi le ratio œstradiol/testostérone. De nombreuses autres observations expérimentales soutiennent le rôle hautement vraisemblable des hormones sexuelles dans la survenue du cancer de la prostate. Cependant, on ignore avec précision les processus hormonaux sous-jacents, ainsi que le rôle des différentes hormones stéroïdiennes. Si les androgènes ont toujours été considérés comme des déterminants des fonctions et des pathologies tumorales prostatiques, depuis plusieurs années, le rôle des œstrogènes est également mis en avant (Bonkhoff et Berges, 2009 ; Bonkhoff, 2018).

Il existe à ce jour peu de facteurs de risque modifiables clairement établis de survenue du cancer de la prostate et donc accessibles à la prévention. Parmi les facteurs nutritionnels, il est admis, comme cela est observé pour de nombreux autres cancers, que l'alimentation dite occidentalisée (*Western diet*), riche en graisses saturées et pauvre en fruits et légumes serait associée à une augmentation du risque de cancer de la prostate par rapport à celle de type méditerranéen (Capurso et Vendemiale, 2017). Le rôle de divers facteurs nutritionnels, associés négativement (lycopènes, vitamine D, vitamine E, sélénium) ou positivement (calcium alimentaire) au risque de survenue de cancer de la prostate est encore très controversé (Pernar et coll., 2018). L'exposition à des xénobiotiques environnementaux, dont les pesticides, a été également évoquée. Une attention a été portée sur les xénobiotiques possédant des propriétés hormonales (perturbateurs endocriniens) et divers travaux expérimentaux soutiennent l'hypothèse d'une influence délétère en favorisant le développement tumoral au sein du tissu prostatique (Prins, 2008 ; Diamanti-Kandarakis et coll., 2009).

Histoire naturelle, agressivité et hétérogénéité du cancer de la prostate

La présence de foyers tumoraux microscopiques au sein de la prostate adulte est extrêmement fréquente, atteignant la majorité des individus à un âge avancé. Cependant, la progression de ces lésions au sein de la prostate et leur extension au-delà de la capsule prostatique ne se produit que chez un nombre plus limité d'individus. L'adénocarcinome de la prostate correspond à la transformation maligne et à la progression des cellules acineuses de la prostate (c'est-à-dire à une plus grande agressivité conduisant potentiellement à une extension extra-prostatique). Bien que ce phénomène soit encore très débattu, certaines lésions avec conservation de l'intégrité de la membrane basale, notamment l'atrophie inflammatoire proliférative (*proliferative inflammatory atrophy*, PIA), la petite prolifération acinaire atypique (*atypical small acinar proliferation*, ASAP) et la néoplasie prostatique intraépithéliale (*prostatic intraepithelial neoplasia*, PIN) seraient des lésions initiales ou précurseurs (Srirangam et coll., 2017) (figure 12.1).

Les cellules transformées prolifèrent en envahissant les structures adjacentes (invasion du stroma avec disparition des cellules basales des acini, et/ou des filets nerveux au voisinage des acini) et peuvent migrer en dehors de la prostate en empruntant la circulation lymphatique ou veineuse pour donner lieu à des métastases. Les métastases, affectent principalement la moelle osseuse, induisent une perturbation des lignées hématopoïétiques et sont

retrouvées dans plus de 80 % des cas de décès attribuables au cancer de la prostate (Ibrahim et coll., 2010).

Il est admis que le cancer de la prostate peut présenter divers profils d'agressivité, depuis des formes indolentes, avec peu ou pas de répercussions somatiques jusqu'à des formes très évolutives. Certaines formes, dites hormonosensibles répondent favorablement aux traitements, en particulier hormonaux (par exemple aux anti-androgènes), d'autres hormono-résistantes répondent défavorablement, évoluant rapidement vers une issue fatale (Berman et Epstein, 2014).

Les principaux déterminants d'agressivité pouvant être estimés au moment du diagnostic sont le stade clinique et, surtout, le score histopathologique de Gleason. Un des enjeux majeurs est de mieux comprendre les raisons de survenue des formes agressives et en particulier d'identifier si elles sont associées à des facteurs de risque génétiques ou environnementaux, accessibles à la prévention ou non, ou pouvant orienter des thérapeutiques ciblées (Witte et coll., 2000 ; Figiel et coll., 2017). Cela explique l'intérêt croissant qui est porté aux formes agressives dans les études épidémiologiques visant à identifier des facteurs de risque, modifiables et non modifiables. Dans le cadre des études mécanistiques, le rôle particulier du microenvironnement tumoral (par exemple fibroblastes ou adipocytes sécrétant à la fois des cytokines pro-inflammatoires, pro-migratoires ou des exosomes modifiant l'expression génique des tumeurs) est de plus en plus souvent évoqué (Nawaz et coll., 2014 ; Shiao et coll., 2016 ; Nassar et coll., 2018).

L'hétérogénéité intra-tumorale et inter-métastases est documentée pour de nombreux cancers. Une explication de cette hétérogénéité repose sur l'existence de cellules souches cancéreuses (CSC) capables de donner naissance à différents types cellulaires, lesquels contribueraient à la diversité génotypique et phénotypique d'une même tumeur. Selon ce concept, seules les CSC seraient responsables de la progression de la tumeur (Gerlinger et Swanton, 2010 ; Marusyk et coll., 2012 ; Meacham et Morrison, 2013). La connaissance de cette hétérogénéité intra-tumorale et inter-métastases a ouvert la voie à la médecine personnalisée ou médecine de précision, en relation avec les thérapeutiques ciblées qui sont développées depuis une vingtaine d'années. Récemment, cette hétérogénéité tumorale a été retrouvée sur des biopsies de tumeurs de la prostate (Boutros et coll., 2015).

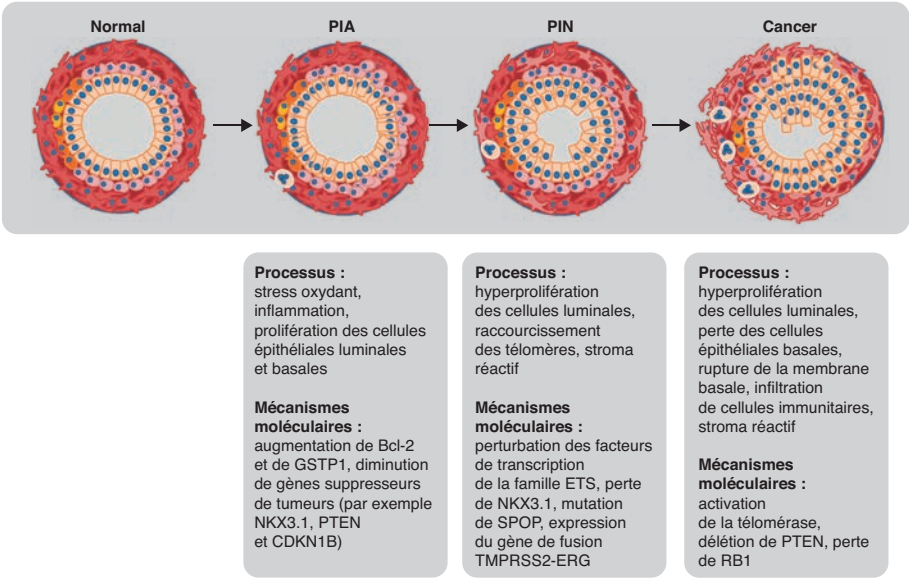


Figure 12.1 : Évolution du tissu prostatique au cours de la cancérogenèse (d'après Packer et coll., 2016)

À gauche une représentation schématique d'un acinus prostatique normal composé de cellules épithéliales luminales (orange clair) et basales (rose), des cellules intermédiaires (orange) et des cellules souches (jaune) recouvert d'une couche stromale (rouge). NIP : néoplasie intraépithéliale prostatique ; AIP : atrophie inflammatoire proliférative. (Figure traduite de l'anglais)

Mécanismes biologiques à l'origine du développement du cancer de la prostate

Le développement du cancer est favorisé par l'accumulation d'altérations génétiques et épigénétiques et des voies moléculaires et circuits cellulaires, qui contrôlent la croissance cellulaire et leur potentiel de réplication, de progression et de survie.

La survenue d'un cancer de la prostate a été reliée aux altérations des mécanismes moléculaires et cellulaires qui gouvernent physiologiquement le développement de l'organe. La croissance, la différenciation et la fonction de la prostate sont principalement contrôlées par les androgènes et leurs récepteurs qui activent notamment la prolifération des cellules épithéliales prostatiques (Cunha et coll., 1986 ; Banerjee et coll., 2000 ; Taplin et Ho, 2001). Il a été donc tout à fait légitime d'associer l'activation du récepteur aux androgènes (AR) à la survenue et à la progression du cancer de la prostate. Cette activation est intimement liée à la concentration locale d'androgènes et donc à leur métabolisme et notamment à leur conversion en œstrogènes par l'aromatase ou CYP19 (figure 12.2).

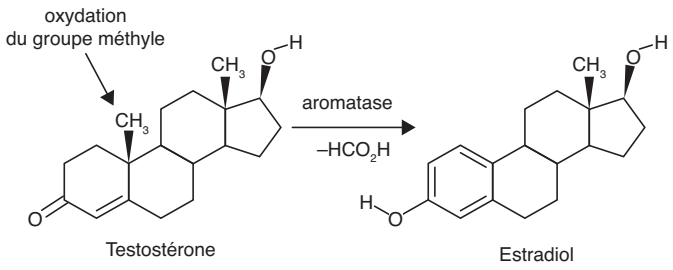


Figure 12.2 : Réaction catalysée par l'aromatase

Il a ainsi été montré que l'expression de cette enzyme est modifiée dans les tumeurs prostatiques et notamment dans les cellules métastatiques (Ellem et coll., 2004 ; Nelles et coll., 2011). Une étude a aussi montré des associations entre certains polymorphismes fonctionnels de gènes codant l'aromatase et le CYP1B1 (enzyme du métabolisme des xénobiotiques qui catalyse l'hydroxylation de l'œstradiol, inactivant ce dernier mais produisant un dérivé génotoxique appelé catéchol) et le risque de survenue de cancer de la prostate (Cussenot et coll., 2007).

Le rôle direct des œstrogènes (produit de l'aromatase) dans le développement du cancer de la prostate a aussi été posé (Härkönen et Mäkelä, 2004). Ainsi, ceux-ci interfèrent avec la production d'androgènes *i*) par la répression de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique ; *ii*) par action directe sur les testicules. Un rôle indirect est également évoqué pour les œstrogènes dans la régulation de la prostate *via* la voie de la prolactine. Les œstrogènes ont aussi des effets directs sur la prostate, qui peuvent être provoqués par une hormone externe ou par l'œstradiol produit par une aromatisation locale de la testostérone.

Il semble donc important de considérer la balance œstrogènes/testostérone au cours du développement du cancer de la prostate comme le montrent des travaux au cours du vieillissement, avec une augmentation du ratio œstrogènes/testostérone dans le compartiment intra-prostatique avec l'âge (Gooren et Toorians, 2003 ; Prezioso et coll., 2007).

Le principal mode d'action de ces deux hormones stéroïdes passe par l'activation de récepteurs nucléaires (AR et ER) dont la voie de signalisation est présentée sur la figure suivante (figure 12.3).

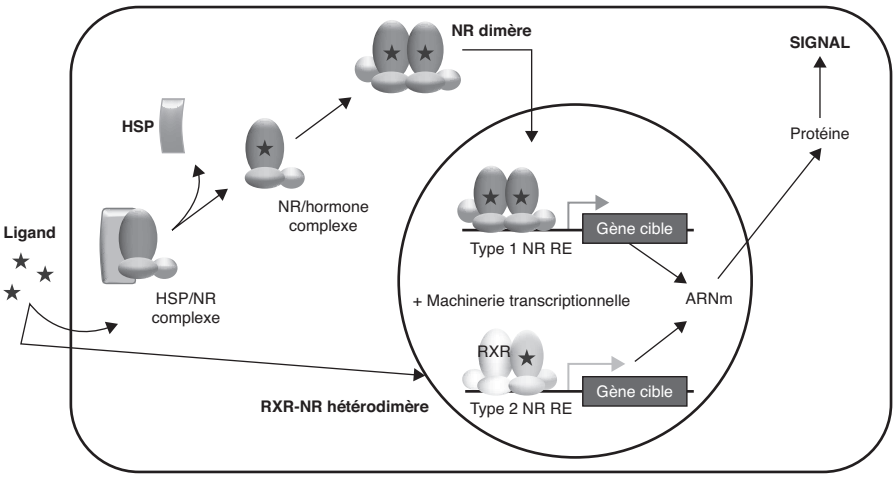


Figure 12.3 : Voie de signalisation des récepteurs nucléaires (d'après Grimaldi et coll., 2015)

Avant la fixation du ligand, les récepteurs nucléaires de type 1 forment un complexe inactif avec des protéines chaperonnes (par exemple *Heat Shock Protein,* HSP) dans le cytoplasme (pour les récepteurs aux androgènes) ou dans le noyau (pour les récepteurs aux œstrogènes), alors que les récepteurs de type 2 (hétérodimères RXR) sont liés à leurs gènes cibles avec des corépresseurs. Suite à la liaison du ligand, les récepteurs nucléaires de type 1 se dissocient de leurs chaperonnes, se lient à leurs gènes cibles et les activent. Pour les récepteurs nucléaires de type 2, la fixation du ligand résulte en la dissociation des corépresseurs et le recrutement des co-activateurs. (Figure traduite de l'anglais)

Il est donc plausible que ces récepteurs nucléaires jouent un rôle dans la survenue d'un cancer de la prostate ; ainsi, une augmentation de l'expression des récepteurs aux œstrogènes (ER) α et β, est observée au cours de la transformation néoplasique de la prostate. De plus, le rat Noble exposé à de faibles doses de testostérone développe un cancer de la prostate dans 40 % des cas, mais ce chiffre augmente aux environs de 100 % en cas de co-exposition avec de faibles doses d'œstradiol (Bosland, 2005). Le rôle du récepteur ERα est démontré chez des souris *knock out*[31] invalidées pour ce récepteur dans le processus de cancérogénèse induite par une exposition testostérone + œstradiol (Ricke et coll., 2008). En revanche, ERβ, qui fixe préférentiellement les phyto-œstrogènes, jouerait un rôle de protection de l'épithélium prostatique dans le processus de transformation maligne (Bonkhoff et Berges, 2009).

D'autres mécanismes de cancérogénèse non exclusifs ont été proposés, comme une augmentation du stress oxydant, car un déséquilibre en superoxyde dismutase 2 (SOD2), enzyme qui dégrade l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (lequel en présence d'ions métalliques tel que Fe^{2+} est

31. Il s'agit de souris qui ont été génétiquement modifiées pour inactiver un ou plusieurs gènes dans les cellules souches embryonnaires dont elles sont issues.

générateur du radical OH°), a été suggéré comme pouvant jouer un rôle dans la survenue et dans la progression du cancer de la prostate (Berto et coll., 2015).

La surexpression de c-FLIP (*cellular FAS-associated death domain-like interleukin 1β-converting enzyme inhibitory protein*), une protéine anti-apoptotique, est fréquemment observée dans de nombreuses lignées cancéreuses, y compris prostatiques (Wilkie-Grantham et coll., 2013). Une surexpression de c-FLIP est retrouvée par exemple, dans des tissus tumoraux humains issus de prostatectomie (Gao et coll., 2005).

Enfin, les processus inflammatoires semblent jouer un rôle important : des cellules pro-inflammatoires ont été retrouvées dans le microenvironnement prostatique (De Marzo et coll., 2007) suggérant l'implication de cytokines ; ainsi, l'interleukine 6 (IL-6) favorise à la fois l'activation de STAT3 (*Signal transducer and activator of transcription 3*), un facteur de transcription intervenant dans l'inflammation et bloquant l'apoptose, et l'interaction entre le AR et ses co-activateurs (SRC-1 et SMRT), et ainsi la transcription de gènes AR-dépendants (comme celui du PSA), à l'origine de la division des cellules prostatiques (Wang et coll., 2016a).

L'inflammation peut être consécutive à un stress oxydant responsable d'évènements mutagènes, mais aussi à une infection bactérienne, virale ou par d'autres microorganismes. En lien avec une infection bactérienne, la participation du microbiote vésical dans le processus de cancérogenèse a été récemment suggérée (Sfanos et coll., 2018).

Modèles d'étude expérimentaux

La grande hétérogénéité cellulaire des tumeurs prostatiques et de leur vitesse de progression vers la maladie métastatique rend difficile le choix d'un modèle expérimental pertinent. En cancérogenèse expérimentale, les rongeurs représentent le modèle le plus utilisé. Le rat est l'espèce la plus fréquemment utilisée dans les études d'exposition aux toxiques, ainsi que dans les études réglementaires visant à étudier la cancérogénicité de substances chimiques[32]. La tumeur spontanée la plus fréquente chez le rat mâle est celle de l'hypophyse (adénome et adénosarcome avec une fréquence d'environ 46 % à l'âge de 24 mois pour la souche Sprague-Dawley). En revanche, les

32. La ligne directrice de l'OCDE (OCDE 451 revues en 2018) détaille les conditions expérimentales, en particulier le nombre d'animaux par groupe et la durée de l'étude fixée à 2 ans pour les rats. http://www.oecd.org/fr/publications/essai-n-451-etudes-de-cancerogenese-9789264071193-fr.htm (consulté le 30 mars 2020).

tumeurs de la prostate ne s'observent qu'à une très faible fréquence (environ 1 %), et cette espèce ne représente pas un modèle expérimental pertinent pour évaluer le processus tumoral prostatique. La fréquence de tumeurs de la prostate est aussi très faible chez la souris, mais des modèles, réalisés par invalidation de gènes suppresseurs de tumeurs tels que *Pten* (*Phosphatase and tensin homolog*) ou *Nkx3.1* (*Homeobox protein Nkx 3.1*), ou par transgénèse telle que PB-SV40 T ou PB-Tag (souris TRAMP), LBT-large T (souris LADY), sont utiles (Hensley et Kyprianou, 2012). Ces modèles sont particulièrement résistants au développement métastatique et la maladie est donc différente de celle observée chez l'homme. Cependant, les modèles murins fournissent des informations sur la progression tumorale lors d'implantation *in situ* de xénogreffes humaines (Grabowska et coll., 2014). L'alternative à l'utilisation de la souris est représentée par les lignées cellulaires cancéreuses prostatiques humaines (par exemple DU-145, PC-3, LNCaP, VCaP). Cependant, ces modèles cellulaires ne sont pas soumis au contrôle paracrine complexe du microenvironnement tumoral. Le développement de modèles en 3 dimensions (3D) permet d'obtenir des informations plus proches de la physiologie tissulaire et les effets des toxiques sont généralement plus prédictifs en comparaison des cellules cultivées en 2 dimensions (2D). Le modèle 3D peut aussi faire intervenir des cellules d'origines différentes, par exemple cellules tumorales et pré-adipocytes (modèles mixtes 3D). Enfin, il est possible de produire, pour certains tissus, des organoïdes à partir de cellules souches cultivées en condition de différenciation (par exemple pour l'intestin normal et pathologique) ou bien à partir de cellules tumorales. La production d'organoïdes construits à partir des lignées LNCaP et C4-2B a été récemment rapportée (Ma et coll., 2017) et ils constituent des perspectives d'avenir pour étudier le dialogue complexe tumeur-microenvironnement.

Pesticides et cancer de la prostate : données épidémiologiques

Résumé de l'expertise collective Inserm de 2013

Au cours des dernières décennies, de nombreuses études épidémiologiques et méta-analyses ont souligné la présence d'un excès de risque de survenue du cancer de la prostate, estimé entre 7 et 12 %, chez les populations rurales ou agricoles. D'autres études ont également montré un excès de risque de cancer de la prostate, compris entre 12 et 28 %, chez les applicateurs de pesticides ou chez les employés d'usines de production de pesticides. La cohorte prospective *Agricultural Health Study* (AHS)[33], réalisée aux

33. https://aghealth.nih.gov/ (consulté le 30 mars 2020)

États-Unis composée de 89 000 agriculteurs et leurs conjoints dans les États de l'Iowa et de Caroline du Nord, a montré la présence d'un risque accru de survenue de cancer de la prostate chez les exploitants agricoles applicateurs de pesticides (de l'ordre de 19 %) ainsi que chez les applicateurs professionnels de pesticides (de l'ordre de 28 %).

C'est ainsi qu'à partir des données disponibles en 2013, l'expertise collective Inserm de 2013 (Inserm, 2013) avait conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition aux pesticides, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, chez les agriculteurs, chez les applicateurs de pesticides et chez les ouvriers de l'industrie de production de pesticides, et le risque de survenue du cancer de la prostate.

D'autres travaux se sont intéressés à des catégories de pesticides en fonction de leur utilisation (herbicides, insecticides…), ainsi qu'aux familles chimiques susceptibles de concourir aux excès de risque de cancer de la prostate observés en milieu agricole et parmi les utilisateurs de pesticides. D'une manière générale, ces travaux n'ont pas permis de dégager une catégorie particulière de pesticides en matière d'utilisation ou de famille chimique.

L'expertise collective Inserm de 2013 ne s'est donc pas prononcée sur les liens de présomption éventuels entre l'exposition à une catégorie d'usage ou à une famille chimique particulière de pesticides et le risque de survenue du cancer de la prostate.

Finalement, certains travaux se sont penchés de manière plus spécifique sur les différentes substances actives. Dans ces études, deux grandes approches ont été employées pour estimer l'exposition : d'une part, des approches indirectes par questionnaire et/ou l'emploi de matrices emploi-exposition, avec parfois la construction d'indicateurs intégrés d'exposition tenant compte, par exemple, de la durée, de la fréquence ou encore de l'intensité d'exposition ; d'autre part, des mesures directes de l'imprégnation des sujets dans une matrice biologique (par exemple, sang, urines…). Dans ce dernier cas, une plus grande confiance a été attribuée aux mesures portant sur des substances dites persistantes, à longue durée de vie dans l'organisme, car l'exposition – telle qu'estimée – présente moins d'erreurs de mesure.

Tenant compte des données disponibles, l'expertise collective Inserm de 2013 avait conclu au regard du risque de survenue du cancer de la prostate et sur la base des données existantes :

• en population professionnellement exposée dans le secteur de l'agriculture, à une présomption moyenne de lien concernant les insecticides organophosphorés coumaphos et fonofos, l'insecticide carbamate carbofuran,

l'herbicide carbamate butilate ainsi qu'avec l'insecticide pyréthrinoïde perméthrine. À noter que pour ces substances actives, le risque de survenue de la maladie était soit plus élevé (butilate) soit exclusivement présent (coumaphos, fonofos, carbofuran, perméthrine) chez les sujets présentant des antécédents familiaux de cancer de la prostate parmi les apparentés au premier degré ;

• en population générale, à une forte présomption de lien concernant l'exposition à un insecticide organochloré, le chlordécone, et à une présomption faible pour trois autres insecticides organochlorés, la dieldrine, l'isomère β du hexachlorocyclohexane (β HCH) et le chlordane (notamment son composé le plus persistant, le *trans*-nonachlore). À noter que pour le chlordécone, le risque de survenue de la maladie était également plus élevé chez les sujets déclarant des antécédents familiaux de cancer de la prostate parmi les apparentés au premier degré et plus élevé chez les patients présentant une forme agressive de la maladie au moment du diagnostic.

Nouvelles données épidémiologiques

Méta-analyses et cohortes en exposition professionnelle agricole aux pesticides

Une première méta-analyse publiée en 2013 a regroupé 10 études publiées dont la dernière en 2012 et 2 études non publiées de type cas (prévalents ou incidents) - témoins portant sur les activités professionnelles dans le secteur agricole (Ragin et coll., 2013). Ces études comprenaient au total 3 978 cas (incidents ou prévalents) et 7 393 témoins chez lesquels les expositions ont été estimées de manière indirecte, principalement par des questionnaires. Cette méta-analyse ne rassemble pas cependant toutes les études existant aujourd'hui et les critères de sélection des études ne sont pas clairement explicités. L'activité professionnelle en milieu agricole était associée à un risque augmenté de cancer de la prostate (méta OR = 3,83 ; IC 95 % [1,96-7,48]) dans les études où les témoins étaient porteurs d'une hypertrophie bénigne de la prostate. Un excès de risque a également été retrouvé dans les études où les témoins ne présentaient aucune pathologie prostatique (méta OR = 1,38 ; IC 95 % [1,16-1,64]). La différence dans l'intensité de risque en fonction du choix des témoins pourrait être due au fait que les sujets témoins avec hypertrophie bénigne de la prostate ont fait l'objet d'une attention particulière pour exclure un cancer de la prostate (par exemple, examen histologique de la pièce de résection). Une analyse portant sur l'utilisation de pesticides dans le secteur agricole, incluant 5 des 12 études initiales et restreinte à 269 cas et 535 témoins, ne précisant ni la durée d'emploi ni la nature des matières actives, a montré une association

inverse entre l'utilisation de pesticides et le risque de cancer de la prostate (méta OR = 0,68 ; IC 95 % [0,49-0,96]). Les auteurs suggèrent que les témoins inclus dans cette analyse pourraient avoir été également exposés aux pesticides. Ils s'appuient sur les observations d'une étude antérieure (Sharpe et coll., 2001), où l'usage de pesticides dans des activités de loisirs (bricolage, jardinage...) a été associé à un risque augmenté de survenue de cancer de la prostate.

Une deuxième méta-analyse (Lewis-Mikhael et coll., 2016) a analysé, suite à une recherche exhaustive de la littérature et une procédure de sélection bien argumentée, 25 études de type cas-témoins et 4 cohortes publiées entre 1985 et 2014. L'exposition aux pesticides (en population générale ou professionnelle) a été retrouvée associée à un excès de risque de cancer de la prostate (méta OR = 1,33 ; IC 95 % [1,02-1,63]).

La cohorte AGRICAN[34], composée de plus de 180 000 participants inclus sur la période 2005 à 2007 dans 11 départements français, a permis d'apporter de nouvelles informations concernant le risque de survenue de cancer de la prostate en milieu agricole. Cette cohorte réalise régulièrement des croisements avec les données des registres de cancers des départements concernés afin d'identifier les cas de cancers incidents, et avec les données du CépiDc pour recueillir les causes de décès. Un premier type d'analyse consiste à calculer des rapports standardisés de taux d'incidence (SIR) et de mortalité (SMR) afin de comparer la survenue de cancers dans cette population agricole à celle de la population générale. Lors d'une première analyse du suivi au 31 décembre 2011 et portant sur 2 538 cas de cancer de la prostate, l'incidence était plus élevée de l'ordre de 7 % (SIR = 1,07 ; IC 95 % [1,03-1,11]) (Lemarchand et coll., 2017). Ce SIR élevé était présent chez ceux qui exerçaient une activité professionnelle dans une exploitation agricole (1,07 ; [1,03-1,12]) et non chez ceux qui exerçaient une activité professionnelle hors exploitation agricole (0,97 ; [0,84-1,11]). Parmi les travailleurs dans les exploitations agricoles, un SIR élevé a été observé chez les salariés (1,17 ; [1,09-1,26]) et non chez les exploitants (1,02 ; [0,97-1,08]). Toujours parmi

34. La cohorte prospective française AGRICAN est une cohorte de 181 842 personnes de 18 ans et plus, affiliées pendant 3 années ou plus au cours de leur carrière professionnelle à la Mutualité sociale agricole, et résidant dans l'un des 11 départements français disposant en 2005 d'un registre de cancers (à savoir le Doubs, le Bas-Rhin, la Côte d'Or, la Gironde, le Haut Rhin, l'Isère, la Loire-Atlantique, la Manche, la Somme, le Tarn, la Vendée). L'étude inclut à la fois des hommes et des femmes, des exploitants et des salariés, des actifs et des retraités, dans l'ensemble des secteurs agricoles français. Elle relève l'activité dans 13 cultures différentes (céréales, maïs, vignes, arboriculture, pommes de terre, tournesol, colza, betteraves, pois fourragers, tabac, légumes, cultures sous serres, prairies) et 5 élevages (bovins, ovins/caprins, porcs, volailles, chevaux), et les principales tâches reliées à ces cultures et élevages, en incluant l'utilisation de pesticides. Elle estime l'exposition à des familles et des matières actives spécifiques par croisement avec la matrice emploi-exposition PESTIMAT (Baldi et coll., 2017).

les travailleurs des exploitations agricoles, un SIR élevé a été constaté autant chez les utilisateurs (1,09 ; [1,03-1,15]) que chez les non-utilisateurs de pesticides (1,27 ; [1,06-1,50]). Parmi les différentes formes d'utilisation de pesticides, certaines ne présentaient pas de SIR élevé (0,85 ; [0,71-1,02]), notamment lorsqu'il s'agissait d'usage d'insecticides dans les élevages ou des herbicides pour le nettoyage des cours, allées, talus de l'exploitation.

Un deuxième type d'analyses, basées sur des comparaisons internes à la cohorte, consiste à identifier les facteurs de risque professionnels intervenant dans la survenue du cancer de la prostate (Lemarchand et coll., 2016a). Au total, 1 672 cas incidents de cancer de la prostate sont survenus jusqu'au 31 décembre 2009. Les risques ont été calculés par des analyses de survie (modèle de Cox) permettant d'estimer le rapport des risques instantanés (HR, *Hazard Ratio*). L'activité sur une ferme, sans préjuger de l'exposition aux pesticides (n = 71 388) n'était pas associée de manière globale à un excès de risque de survenue de cancer de la prostate par comparaison avec les participants n'ayant pas travaillé sur une ferme (groupe de référence, n = 10 573) (HR = 1,05 ; IC 95 % [0,89-1,24]). Ce groupe de comparaison comportait des personnes affiliées à la Mutualité sociale agricole pour des activités telles que les métiers du paysage et des espaces verts, du bois et de la forêt, de la pêche et de l'ostréiculture, les coopératives agricoles, les métiers tertiaires agricoles de l'enseignement, de l'administration ou de la banque...

Les analyses principales de cette publication ont été restreintes aux hommes ayant travaillé sur une ferme, en prenant chaque fois comme groupe de référence les personnes non exposées à la culture, à l'élevage ou à la tâche analysée. Des associations positives ont été retrouvées chez les hommes ayant cultivé des prairies (1,16 ; [1,01-1,33]), chez ceux ayant élevé des bovins, à la limite de la signification statistique (1,16 ; [0,99-1,36]) et chez les cultivateurs de tabac (1,17 ; [0,99-1,38]). L'utilisation d'insecticides sur les animaux d'élevage et l'usage de pesticides sur les cultures (de manière globale) n'étaient pas associés au risque de survenue du cancer de la prostate. En revanche, ceux ayant employé des insecticides pour le bétail (groupe de référence : ceux travaillant dans l'élevage de bétail mais sans avoir utilisé d'insecticides) présentaient un excès de risque (1,20 ; [1,01-1,42]), essentiellement dans les élevages comportant plus de 150 animaux (1,59 ; [1,02-2,48]). Une élévation significative du risque était observée lors de l'emploi de pesticides sur les cultures de blé ou d'orge (1,17 ; [1,03-1,34]) ainsi que dans des cultures fruitières sur des superficies supérieures à 25 ha (2,28 ; [1,08-4,80]). Le traitement des semences d'orge et de blé par des pesticides sur la ferme a été également associé à un risque plus élevé de cancer de la prostate (1,17 ; [1,03-1,34]). À noter, l'absence d'usage de gants

de protection lors de l'emploi de pesticides a été retrouvée associée à un risque accru de cancer de la prostate dans les cultures céréalières (orge, blé) et fruitières (1,26 ; [1,08-1,47] et 1,44 ; [1,10-1,88], respectivement).

Les auteurs décrivent également d'autres activités ou tâches professionnelles pouvant exposer de manière indirecte aux pesticides (groupe de référence : ceux travaillant dans le secteur agricole mais n'ayant jamais été impliqués dans l'activité ou tâche correspondante) comme étant associées à un excès de risque : la récolte des foins (1,18 ; [1,0-1,36]), le traitement des semences de blé ou d'orge (1,16 ; [1,01-1,34]), l'emploi de pesticides dans les cultures de blé ou d'orge (1,17 ; [1,03-1,34]), le semis (1,26 ; [1,06-1,51]) et la récolte de plants de tabac (1,29 ; [1,08-1,54]) ainsi que l'usage de pesticides dans des cultures fruitières sur des superficies supérieures à 25 ha (2,28 ; [1,08-4,80]). À l'inverse, le travail en viticulture dans des chais a été associée à une inversion du risque (0,86 ; [0,74-1,00]), avec des risques qui diminuent lorsque la durée d'emploi augmente et en particulier quand elle était supérieure à 40 ans (0,68 ; [0,47-0,98] ; p de tendance = 0,01). Finalement, l'absence d'usage de gants de protection lors de l'emploi de pesticides était associée à un risque accru de cancer de la prostate dans le cas des cultures céréalières (orge, blé) et fruitières (1,26 ; [1,08-1,47] et 1,44 ; [1,10-1,88], respectivement).

Une étude de cohorte canadienne CanCHEC[35] a rapporté un excès de risque de survenue de cancer de la prostate chez les agriculteurs comparé à ceux qui exerçaient dans des secteurs d'activité non agricoles (HR = 1,11 ; IC 95 % [1,06-1,16]) (Kachuri et coll., 2017). Cet excès de risque a été également constaté parmi les exploitants agricoles (1,12 ; [1,07-1,17]) et à la limite de la significativité statistique chez les ouvriers agricoles (1,08 ; [0,99-1,17]). Quant aux secteurs professionnels, les hommes travaillant dans l'élevage présentaient un excès de risque (1,26 ; [1,03-1,55]) mais pas ceux travaillant dans les cultures. Aucune information n'a été apportée concernant l'emploi de pesticides.

Sharma et coll. (2016), ont publié une analyse cas prévalents (n = 114) - témoins (n = 2 824) nichée dans la cohorte canadienne *Saskatchewan Rural Health Study* menée parmi des populations vivant en milieu rural. La résidence sur une exploitation agricole et l'usage combiné d'insecticides et de fongicides dans une activité agricole étaient associés à un excès de risque de cancer de la prostate (OR = 1,86 ; IC 95 % [1,07-3,25] et 2,06 ; IC 95 % [1,15-3,69] avec le modèle statistique employé pour la résidence sur

35. https://crdcn.org/datasets/canchec-canadian-census-health-and-environment-cohort (consulté le 30 mars 2020)

une exploitation agricole, et 2,23 ; [1,15-4,33] et 2,37 ; [1,19-4,71] avec le modèle statistique pour l'usage combiné d'insecticides et fongicides). Aucune information n'était apportée concernant les familles chimiques ou les matières actives employées.

Études spécifiques de familles de substances ou de substances actives

- ***Organochlorés***

De nouvelles études se sont intéressées aux substances actives, dont les pesticides organochlorés, pour la plupart retirés du marché de longue date mais dont leur faible capacité à se dégrader dans des milieux biotiques ou abiotiques conduit à leur persistance dans des matériaux (par exemple les bois traités) et dans l'environnement (par exemple les sols) ainsi que leur accumulation tout le long de la chaîne trophique. De ce fait, les populations y sont toujours exposées, par voies aérienne et alimentaire. Une étude de type cas-témoins en population générale réalisée en Guadeloupe (Karuprostate, 576 cas et 655 témoins) (Emeville et coll., 2015) a montré que la présence de DDE (dichlorodiphényldichloroéthylène) dans le sang (métabolite persistant du DDT – dichlorodiphényltrichloroéthane) était positivement associée à un risque accru de survenue du cancer de la prostate (OR = 1,53 ; IC 95 % [1,02,-2,30] pour le 5^{e} quintile d'exposition comparé au premier quintile d'exposition avec une relation dose-effet linéaire significative, p de tendance = 0,01). Ces résultats ont tenu compte de l'exposition au chlordécone et aux PCB. En Corée du Sud, une analyse cas-cohorte au sein de la *Korean Cancer Prevention Study-II* conduite en population générale et sur un suivi compris entre 7,6 et 18,6 années, a comparé 110 cas de cancer de la prostate identifiés en interrogeant le registre national des cancers à 256 témoins (Lim et coll., 2017). Pour tous, un prélèvement de sang a été obtenu à l'inclusion dans la cohorte permettant le dosage de 19 pesticides organochlorés, molécules mères, isomères ou métabolites (oxychlordane, nonachlore chlordane, heptachlore, heptachlore époxyde, hexachlorobenzène, hexachlorocyclohexanes, DDT, DDD – dichlorodiphényldichloroéthane – et DDE). Seul le *trans*-nonachlore était positivement associé, à la limite de la signification statistique, au risque de survenue de cancer de la prostate (HR = 1,60 ; [0,99-2,58] ; exposition transformée en logarithme de base 10). Dans une étude cas incidents (n = 60) – témoins hospitaliers (n = 60) à Singapour, des pesticides organochlorés ont été dosés dans le sang (isomères de l'hexachlorocyclohexane, heptachlor époxyde, α-endosulfan, DDT, DDD, DDE, hexachlorobenzène, chlordécone) (Pi et coll., 2016). Les auteurs rapportent des associations positives avec le DDT et ses métabolites pour le 3^{e} tercile d'exposition mais avec parfois des associations négatives

pour d'autres terciles. Les résultats de cette étude sont difficilement interprétables compte tenu des faibles effectifs. Au cours d'une communication dans un congrès et n'ayant pas encore fait l'objet de publication dans une revue à comité de lecture (Lemarchand et coll., 2016b), une analyse portant sur 1 672 cas de cancer de la prostate de la cohorte AGRICAN, en utilisant la matrice emploi-exposition PESTIMAT (Baldi et coll., 2017), a rapporté une augmentation du risque de survenue de cancer de la prostate, à la limite de la signification statistique, chez les sujets exposés à la famille des pesticides organochlorés (HR = 1,15 ; IC 95 % [0,99-1,32]). En individualisant les matières actives organochlorées (18 au total), des associations positives ont été observées, y compris avec leur durée d'utilisation, pour 6 d'entre elles : aldrine, chlordane, dieldrine, DDD, toxaphène et hexachlorocyclohexane technique (mélange d'isomères, principalement α, β et γ). Dans un modèle statistique prenant en compte simultanément ces 6 matières actives, les associations se maintenaient pour le DDD et l'hexachlorocyclohexane.

Enfin, la cohorte AHS[36], dans son analyse portant sur les formes agressives de cancer de la prostate (Koutros et coll., 2013), rapporte une association positive chez les agriculteurs qui présentaient une forme agressive au diagnostic pour l'aldrine, RR = 1,49 ; IC 95 % [1,03-2,18]) pour le 4e quartile d'exposition comparé au groupe non exposé de référence, avec une relation dose-effet croissante, p de tendance = 0,02 (voir discussion sur les limites de l'étude dans le paragraphe sur les organophosphorés ci-dessous).

- ***Organophosphorés***

La cohorte AHS a apporté de nouvelles observations sur le rôle de pesticides autres que les organochlorés. Lors d'un suivi de la cohorte jusqu'en 2007 portant sur 985 cas incidents de cancer de la prostate, aucune association n'avait été observée avec l'exposition professionnelle au diazinon, un insecticide organophosphoré (Koutros et coll., 2013a). Lors d'un suivi ultérieur de la cohorte, jusqu'en 2010 ou 2011, selon l'État de résidence des participants, portant sur 995 cas incidents, les auteurs n'observent toujours pas d'association significative (Jones et coll., 2015). Néanmoins, ils rapportaient un risque élevé mais non significatif de survenue de formes agressives de cancer de la prostate (n = 505, 50,7 % de l'ensemble des cancers de la prostate) pour le 3e tercile d'exposition (estimée par un indicateur composite

36. La cohorte prospective américaine *Agricultural Health Study* (AHS) est une cohorte d'agriculteurs et d'applicateurs de pesticides (plus de 50 000 personnes) et de leurs conjoints (30 000). Mise en place dans l'Iowa et la Caroline du Nord depuis 1993, l'AHS documente l'impact de pesticides spécifiques (sur 50 pesticides principaux analysés) essentiellement des insecticides ou des herbicides reflétant les spécificités agricoles des deux États dévolus largement aux grandes cultures et aux élevages.

comprenant la durée et l'intensité d'exposition) comparé au groupe non exposé (RR = 1,39 ; IC 95 % [0,97-2,01]). L'analyse portant sur les formes agressives a utilisé comme groupe de référence les témoins n'ayant pas de cancer diagnostiqué. Le pourcentage de formes agressives au diagnostic est très élevé par rapport à l'ensemble des cas. Les auteurs n'apportent pas d'interprétation à ce pourcentage élevé si ce n'est la diversité de critères employés pour définir l'agressivité (explicités par Koutros et coll., 2013a).

Lors d'un suivi jusqu'en 2005 et portant sur 1 131 cas incidents de cancer de la prostate, l'exposition à l'insecticide organophosphoré terbufos était associé à un risque accru de survenue globale de la maladie à la limite du seuil de significativité statistique (HR = 1,21 ; IC 95 % [0,99-1,47]) (Bonner et coll., 2005). Lors d'un suivi ultérieur jusqu'en 2007 portant sur 1 681 cas, cette association n'a pu être confirmée. Cependant, une association a été observée chez les sujets porteurs d'une forme agressive au diagnostic avec comme groupe de référence les sujets sans cancer de la prostate (n = 787, 47,3 % de l'ensemble des cancers de la prostate) (RR = 1,29 ; IC 95 % [1,02-1,64] pour le 4e quartile d'exposition comparé au groupe non exposé de référence, avec une relation dose-effet croissante, p = 0,03) (Koutros et coll., 2013a). Mais en absence d'analyses de l'hétérogénéité, il n'est pas possible d'affirmer que ces associations sont spécifiques des formes agressives. Ici encore, l'analyse portant sur les formes agressives a utilisé comme groupe de référence les témoins sans cancer. Pour d'autres insecticides organophosphorés (fonofos et malathion), ces mêmes auteurs ont également montré, en utilisant comme groupe de comparaison les sujets sans cancer, une absence d'association avec la survenue globale du cancer de la prostate mais des associations positives chez ceux qui présentaient une forme agressive au diagnostic (pour le fonofos, RR = 1,63 ; IC 95 % [1,22-2,17] pour le 4e quartile d'exposition comparé au groupe non exposé de référence, avec une relation dose-effet croissante, p <0,001 et pour le malathion, RR = 1,43 ; IC 95 % [1,08-1,88] pour le 4e quartile d'exposition comparé au groupe non exposé de référence, avec une relation dose-effet croissante, p = 0,02). Notons que pour le fonofos, une étude antérieure au sein de la cohorte avait rapporté une association positive avec le risque de survenue de la maladie chez les sujets déclarant un antécédent familial au 1er degré de cancer de la prostate (Mahajan et coll., 2006a).

- ***Herbicides***

L'exposition au glyphosate avait fait l'objet d'une analyse lors d'un premier suivi de la cohorte AHS jusqu'en 2001 portant sur 2088 cas incidents de cancer de la prostate et aucune association n'avait été observée (De Roos et

coll., 2005). Lors d'un suivi ultérieur de la cohorte, jusqu'en 2012 ou 2013, selon l'État de résidence des participants, portant sur 2 844 cas incidents, aucune association n'a été observée avec le risque de survenue de la maladie (Andreotti et coll., 2018). Finalement, au sein de la cohorte AHS, aucune association avec la survenue du cancer de la prostate n'a été observée concernant l'exposition à des herbicides appartenant à la famille de chloroacétamides tels que l'acétochlore (Lerro et coll., 2015), le métolachlore (Silver et coll., 2015) et l'alachlore (Lerro et coll., 2018). Les auteurs de ces différents travaux n'ont pas étudié le rôle des antécédents familiaux de cancer de la prostate ni celui des caractéristiques d'agressivité de la maladie, sauf dans le cas de l'alachlore pour lequel aucune association n'a été retrouvée.

- ***Autres***

La warfarine (ou coumaphène) est une substance active anticoagulante employée comme rodenticide et comme médicament en médecine humaine. Dans une grande cohorte portant sur 1 256 725 personnes en Norvège, l'usage thérapeutique de la warfarine (pour des maladies cardiovasculaires) a été associé à une diminution de risque de cancer de la prostate (utilisateurs *versus* non-utilisateurs de warfarine avec un diagnostic de cancer de la prostate, *Incident rate ratio* : 0,69 [IC 95 %, 0,65-0,72], Haaland et coll., 2017). Une méta-analyse récente portant sur 8 études n'a pas pu confirmer une telle association (Kristensen et coll., 2018). Aucune étude épidémiologique n'a porté sur cette substance dans le cadre de son usage rodenticide et la survenue du cancer de la prostate.

Pesticides et cancer de la prostate : données mécanistiques

Insecticides organochlorés

Parmi les pesticides, ceux appartenant à la famille des insecticides organochlorés ont donné lieu à un grand nombre d'études mécanistiques, non seulement parce que certains ont été associés à un risque augmenté de survenue de divers cancers, dont celui de la prostate, ou classés comme agents cancérogènes par diverses institutions d'évaluation, mais aussi parce que plusieurs d'entre eux possèdent des propriétés hormonales (perturbateurs endocriniens), focalisant ainsi leur intérêt vis-à-vis des pathologies tumorales hormono-dépendantes, dont le cancer de la prostate. Toutefois, d'autres mécanismes pouvant intervenir dans le processus de cancérogénèses ont également été évoqués.

De nombreuses études mécanistiques se sont appuyées sur des modèles cellulaires, en particulier ceux issus de tumeurs prostatiques. Rubini et coll. (2018) ont ainsi montré que le β-hexachlorocyclohexane (β-HCH, l'un des isomères du HCH technique) intervient dans l'activation de STAT3 (relais de la voie de l'interleukine 6, voir plus haut) sur la lignée humaine cancéreuse prostatique LNCaP (pour rappel, sensible aux androgènes). Le β-HCH, l'heptachlor époxyde et le DDT stimulent le récepteur tyrosine kinase membranaire aux facteurs de croissance EGF (*epidermal growth factor*), HER2/Erb-B2 sur les lignées LNCaP et PC3 (pour rappel, pour cette dernière, résistante aux androgènes) (Tessier et Matsumara, 2001) ; l'activité tyrosine kinase de HER2/Erb-B2 phosphoryle et active les kinases p42/44 (MAPK) impliquées dans la prolifération androgéno-indépendante des cellules tumorales prostatiques. Par ailleurs, le γ-HCH (un isomère du HCH technique appelé également lindane) est inducteur de micronoyaux à très faible dose sur les cellules tumorales prostatiques PC-3 (Kalantzi et coll., 2004). *In vivo*, l'hexachlorobenzène interfère aussi avec la signalisation androgénique chez la souris (Ralph et coll., 2003).

Hormis le HCH, la majorité des études portant sur le DDT, ou son principal métabolite le DDE, étaient focalisées sur leurs propriétés anti-androgéniques (c'est-à-dire d'antagonisme vis-à-vis du récepteur aux androgènes - AR). Le DDE présente des propriétés anti-androgéniques *in vivo* (Owens et coll., 2007). Ces effets sont expliqués par la liaison antagoniste du DDE sur le AR et donc à sa capacité à inhiber l'expression de gènes AR-dépendants (Kelce et coll., 1995 et 1997). Certains auteurs relèvent que le DDT et le DDE inhibent l'expression du PSA sur des lignées tumorales prostatiques humaines LNCaP et VCaP (Wong et coll., 2015). Cette observation est d'importance car une diminution des concentrations circulantes en PSA pourrait conduire à de faux négatifs au moment du diagnostic (Wong et coll., 2015). Si cela est exact, un tel effet tendrait à favoriser l'hypothèse nulle des études épidémiologiques conduites sur le DDT ou le DDE, renforçant ainsi celles qui ont montré une association positive entre les concentrations circulantes de ces substances et le risque de survenue de cancer de la prostate (Koumar et coll., 2010 ; Emeville et coll., 2015). Par ailleurs, il a été suggéré que cette inhibition du PSA pourrait accélérer la conversion des cellules vers un phénotype pré-métastatique (Wong et coll., 2015 ; Di Donato et coll., 2017).

L'effet de la liaison du DDT et DDE au AR doit toutefois être nuancé car celui-ci pourrait être différent en fonction des isoformes du récepteur. Ainsi, Shah et coll. (2008) ont montré que le DDE pouvait activer certains variants tumoraux du AR (T877A, H874Y, L701H, V715M) et ainsi favoriser la transcription de certains gènes cibles (dont celui du PSA). Cet effet n'est

pas observé pour des cellules n'exprimant que le AR « normal », peut-être du fait d'un faible niveau d'expression du PSA (et l'impossibilité d'observer une action antagoniste pour le variant normal) (Shah et coll., 2008). On peut donc soulever l'hypothèse d'un rôle distinct du DDT et du DDE vis-à-vis du AR et de ses variants. Il est donc tentant de poser la question des interrelations entre les différents variants du AR et de poser l'hypothèse que le niveau d'expression de chacun d'entre eux pourrait être particulièrement important pour considérer l'action de pesticides comme le DDE. Il est aussi possible d'imaginer qu'il existerait une compétition au niveau des promoteurs de gènes cibles du AR en cas d'expression de plusieurs variants. La question de l'effet des pesticides organochlorés et peut-être d'autres substances actives sur le cancer de la prostate pourrait donc être examinée au regard des différences d'expression des différents variants du AR. Le DDE pourrait aussi activer certaines voies de signalisation de type MAPK. Cette diversité des voies activées (MAPK, variants AR) pourrait favoriser la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques (Shah et coll., 2008). De plus, comme de nombreux perturbateurs endocriniens, le DDE est susceptible d'influencer le mode d'action d'autres récepteurs aux stéroïdes ; en effet, il présente également des propriétés agonistes vis-à-vis du récepteur ERα (Li et coll., 2008). Comme indiqué précédemment, ce récepteur est susceptible d'être impliqué dans les effets néfastes des œstrogènes sur la prostate, en particulier la prolifération tumorale et l'inflammation (Ellem et coll., 2009). Par ailleurs, un troisième effet de perturbation endocrinienne du DDE (le premier étant sa liaison au AR, le deuxième son action agoniste sur le ERα) peut être suspecté : chez des hommes adultes en bonne santé et sans pathologie tumorale, les concentrations plasmatiques en DDE ont été retrouvées inversement associées aux concentrations circulantes en dihydrotestostérone, suggérant ainsi que le DDE pourrait aussi agir sur la production d'androgènes et donc indirectement sur leur signalisation (Emeville et coll., 2013).

Autres pesticides

Des études mécanistiques au regard de la cancérogenèse prostatique ont été également réalisées sur des pesticides appartenant à d'autres familles chimiques que les organochlorés. Cependant, on remarquera que la plupart de ces travaux ont porté sur des substances qui à ce jour n'ont pas été impliquées ou n'ont été que très peu étudiées dans le cadre d'études épidémiologiques visant à estimer le risque de survenue de cancer de la prostate (paraquat, glyphosate, cyperméthrine, 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acide), atrazine, bénomyl, vinclozoline, prochloraz, chlorpyrifos-méthyl et les fongicides cyprodinil, fenhexamide, fludioxonil).

L'insecticide chlorpyrifos-méthyl et les fongicides cyprodinil, fenhexamide, fludioxonil peuvent lier avec une faible affinité, le AR (Medjakovic et coll., 2014). D'autres, comme par exemple l'herbicide phénoxy 2,4-D et son métabolite le DCP (2,4-dichlorophénol) n'ont pas d'activité androgénique sur des lignées tumorales humaines prostatiques 22rV1 et PC3 (exprimant toutes deux le AR) (Kim et coll., 2005). Cependant le 2,4-D et le DCP en mélange présentent une activité androgénique lors d'une co-exposition avec la 5α-dihydrotestostérone. Cette action synergique pourrait en partie reposer sur une augmentation de la translocation nucléaire du complexe AR.

D'autres pesticides herbicides (atrazine) et fongicides (bénomyl, vinclozoline, prochloraz) ont fait l'objet d'études quant à leurs effets pro et anti-androgénique sur deux lignées : les effets concernant la prolifération, la sécrétion de l'antigène PSA, l'expression et la phosphorylation de AR sur la lignée prostatique humaine LNCaP ; les effets concernant l'expression et l'activité du CYP17 (17α-hydroxylase/17,20 lyase, enzyme clé dans la formation des androgènes) sur la lignée H295R (carcinome de la surrénale). À de faibles concentrations, toutes ces molécules (1-30 µM), à l'exception de l'atrazine, diminuent la prolifération cellulaire, la sécrétion de PSA et l'activation de la voie AR (translocation nucléaire du récepteur et sa phosphorylation). Sur les enzymes de la stéroïdogenèse, le bénomyl et le prochloraz diminuent l'expression et l'activité du CYP17 dans les cellules H295R (Robitaille et coll., 2015). Bien qu'aucun effet de l'atrazine n'ait été observé sur l'activité ou l'expression du AR, ce pesticide induit la liaison de SF-1 (*steroidogenic factor 1*) à la chromatine (Fan et coll., 2007) et possède par ailleurs la propriété d'activer la signalisation STAT3 (voir plus haut, signalisation IL-6) au sein de la lignée prostatique murine RM1, stimulant ainsi la prolifération cellulaire (Hu et coll., 2016).

Parmi les mécanismes indirects de régulation du récepteur AR, une étude réalisée sur la base d'une expérimentation *in vitro* par la technique du double hybride montre que l'insecticide cyperméthrine augmente l'interaction entre AR et ses corépresseurs (SMRT et NCoR[37]) (Pan et coll., 2013). Par ailleurs, l'IL-6 favorise l'interaction entre le AR et ses co-activateurs (SRC-1[38] et SMRT) et donc l'activité transcriptionnelle de la voie de signalisation des androgènes. Cette interaction est aussi bloquée par la cyperméthrine (Wang et coll., 2016b).

D'autres travaux ont montré des effets de certaines substances actives sur l'apoptose de cellules tumorales prostatiques. L'herbicide paraquat, par l'augmentation des niveaux d'anion superoxyde diminue l'expression de la protéine

37. SMRT : *Silencing mediator for retinoid or thyroid-hormone receptors* ; NcoR2 : *Nuclear receptor co-repressor 2.*

38. SRC-1 : *Steroid receptor coactivator-1.*

anti-apoptotique c-FLIP, ce qui laisse présumer un rôle pro-apoptotique de ce pesticide (Wilkie-Grantham et coll., 2013). Rappelons, comme évoqué plus haut, que la surexpression de c-FLIP a été fréquemment observée au cours du développement du cancer de la prostate. De même, le glyphosate et son produit de dégradation, l'AMPA, sont des analogues de la glycine qui est synthétisée par la sérine hydroxyméthyltransférase (SHMT). Une étude, menée sur 8 lignées tumorales et 2 lignées de cellules normales mais immortalisées, montre que le glyphosate et l'AMPA favorisent l'apoptose et inhibent la prolifération des cellules cancéreuses, dont les cellules PC3, et n'ont aucun effet sur les cellules normales (Li et coll., 2013). Dans ces études, les doses de substances actives employées sont toutefois élevées, de l'ordre du mM.

La warfarine (ou coumaphène), anticoagulant employé comme rodenticide, qui a été associée dans certaines études épidémiologiques à une diminution du risque de cancer de la prostate, inhibe indirectement l'activité transcriptionnelle du AR (Tew et coll., 2017). Le mécanisme décrit est une inhibition de l'époxyde réductase VKOR (*Vitamin K epoxide reductase*), une enzyme clé du cycle de la vitamine K. Cette inhibition est responsable du blocage de la voie de signalisation PPARγ qui régule positivement l'activité transcriptionnelle du AR ; ceci a été démontré à la fois par l'utilisation *i*) *in vitro*, de lignées tumorales de la prostate humaines (LNCaP, BPH-1) pour lesquelles VKOR est inhibé par des ARN interférents (siRNA) ; *ii*) *in vivo*, de tissu prostatique provenant de souris Nude traitées à la warfarine. On peut donc poser l'hypothèse d'un ciblage favorisé de la voie PPARγ et indirectement de la voie AR (Tew et coll., 2017).

Interactions gènes - environnement et cancer de la prostate

S'appuyant sur les données de la cohorte AHS, plusieurs analyses réalisées à partir de 776 cas de cancer de la prostate et 1 444 hommes sans cancer (groupe témoin), tous caucasiens, ont identifié des interactions statistiquement significatives après correction pour comparaisons multiples, entre l'exposition à des pesticides et différents variants (polymorphismes de type *single nucleotide polymorphism*, SNP) portés sur plusieurs types de gènes[39] au regard du risque de survenue du cancer de la prostate.

39. 324 SNP parmi 27 gènes impliqués dans la réparation de nucléotides (NER, *nucleotide excision repair*) ; 394 SNP parmi 31 gènes impliqués dans la réparation des bases intervenant dans les lésions oxydatives (BER, *base excision repair*) ; 211 SNP situés sur la région 8q24 connue pour être une région contenant des loci à risque pour le cancer de la prostate ; 32 SNP parmi ceux décrits dans la littérature comme des locus de susceptibilité associés au cancer de la prostate dans des études GWAS ; 220 SNP parmi 59 gènes impliqués dans le métabolisme des lipides ; 152 SNP parmi 9 gènes impliqués dans les fonctions biologiques de la vitamine D.

Gènes de réparation

Des interactions associées à une augmentation du risque de survenue du cancer de la prostate ont été observées chez les porteurs de l'allèle variant A du *ERCC1* (rs2298881) chez les sujets les plus exposés au fonofos ainsi que chez les porteurs du génotype TT présent dans deux SNP corrélés du gène *CDK7* (rs11744596 et rs2932778) (r^2 = 1,0) et exposés au carbofuran (Barry et coll., 2011). Ces deux gènes sont connus pour intervenir dans la réparation de l'ADN par excision de nucléotides (NER) et on peut donc supposer que ces variants soient associés à une plus faible activité de réparation. Des interactions similaires ont été identifiées chez les porteurs des génotypes CT/TT du variant rs1983132 du gène *NEIL3* (*nei endonuclease VIII-like3*) impliqué dans la réparation par excision de bases de l'ADN (BER) et exposés au fonofos (Barry et coll., 2012).

Loci associés au risque de survenue du cancer de la prostate dans des études d'association pangénomique (GWAS)

Koutros et coll. (2010) ont étudié les interactions potentielles entre des SNP situés sur la région 8q24 (région contenant de nombreux loci à risque pour le cancer de la prostate et l'exposition à des pesticides). Des interactions, se traduisant par une augmentation du risque de survenue de cancer de la prostate, ont été observées entre certains variants (rs4242382, rs7837328) et l'exposition au fonofos, terbufos, coumaphos et perméthrine. Cependant, on ignore si ces loci et variants dans la région 8q24 peuvent influencer le métabolisme de ces pesticides. S'agissant de variants situés sur des loci présents dans d'autres régions chromosomiques, parmi les porteurs du génotype TT du rs2710647 du *EHBP1* (*EH domain binding protein 1*) le risque de survenue du cancer de la prostate est augmenté chez les plus exposés au malathion (Koutros et coll., 2013b). EHBP1 est connu pour intervenir dans la régulation du trafic cellulaire, notamment l'endocytose clathrine-dépendante. Par ailleurs, les hommes présentant le génotype AA du rs7679673 du *TET2* (*Ten-eleven-translocation* 2) et exposés à l'aldrine, présentent un risque augmenté de survenue de cancer de la prostate (Koutros et coll., 2013b). Le gène *TET2* code pour une méthylcytosine dioxygénase qui forme, à partir de la méthylcytosine, le métabolite 5-hydroxyméthylcytosine dans l'ADN. Ces modifications participent à l'inhibition de la transcription lorsqu'elles se retrouvent au niveau des promoteurs (un des trois processus de régulation épigénétique). Les modifications observées au niveau chromatinien ont notamment été associées à une répression de l'interleukine 6, et donc à une action anti-inflammatoire. Il serait donc intéressant d'analyser si les variants

de *TET2* identifiés sont moins actifs, favorisant ainsi, avec l'action conjointe de l'aldrine, un phénotype inflammatoire pro-cancérigène.

Gènes associés au métabolisme des lipides

Les hommes porteurs des génotypes TT/CT du rs3027208 du gène *ALOXE3* (*Epidermis-type lipoxygenase 3*) et exposés au terbufos ont un risque élevé de survenue du cancer de la prostate (Andreotti et coll., 2012). *ALOXE3* code une lipo-oxygénase dont l'activité est impliquée, entre autres, dans le métabolisme des acides gras polyinsaturés. Ce résultat associant un risque élevé de cancer de la prostate au métabolisme des lipides est intéressant dans la mesure où le tissu adipeux péri-prostatique et sa composition en acides gras ont été démontrés comme étant impliqués dans la survenue et l'agressivité du cancer de la prostate (Finley et coll., 2009 ; Laurent et coll., 2016 ; Figiel et coll., 2018).

Gènes associés aux fonctions biologiques de la vitamine D

La vitamine D possède des propriétés pro-apoptotiques, antiprolifératives, anti-inflammatoires et anti-angiogéniques sur des cellules prostatiques humaines normales et tumorales (Chen et Holick 2003 ; Adorini et coll., 2007). Les hommes porteurs des génotypes GG/GC du rs1547387 du gène *RXRB* (*retinoid-x-receptor* β) ou du génotype CC des rs7041 et rs222040 du gène GC (*Group-specific component vitamin D binding protein*) et exposés à l'insecticide organophosphoré parathion ont un risque élevé de survenue du cancer de la prostate (Karami et coll., 2013). Un risque élevé de survenue de la maladie est également observé chez les hommes présentant le génotype TT du rs12512631 du GC ou les génotypes GT/TT du rs4328262 du gène *VDR* (*Vitamin D receptor*) et exposés au terbufos (Karami et coll., 2013).

Autres mécanismes mis en jeu

Les télomères sont des régions hautement répétitives, et non codantes, d'ADN à l'extrémité des chromosomes. La taille des télomères diminue au fur et à mesure des divisions cellulaires et à terme ce raccourcissement provoque un arrêt du cycle cellulaire, et l'entrée en sénescence des cellules. Plusieurs études ont suggéré la présence de liens entre les longueurs des télomères et les processus biologiques qui déterminent leur longueur et la survenue de divers cancers dont celui de la prostate (Karamis et coll., 2016 ; Renner et coll., 2018). Un raccourcissement de la longueur des télomères des cellules du stroma de la prostate humaine a été associé à un risque augmenté de survenue du cancer de la prostate (Heaphy et coll., 2015). Une

étude réalisée parmi 1 372 hommes caucasiens sans cancer et participant à la cohorte AHS a montré que les sujets exposés à certains pesticides (alachlore, 2,4-D, métolachlore, trifluraline, perméthrine, toxaphène, DDT) présentaient à partir de cellules buccales des longueurs de télomères réduites comparés aux hommes non exposés (Hou et coll., 2013). Au sein de cette même cohorte et parmi 568 hommes sans cancer, la longueur des télomères a été estimée dans des leucocytes (Andreotti et coll., 2015). L'exposition à certains pesticides (2,4-D, butilate, diazinon, malathion) a été associée à des longueurs de télomères plus courtes. En revanche, l'exposition à l'alachlore a été associée à des télomères plus longs. Cette observation, en contradiction avec l'étude de Hou (Hou et coll., 2013), pourrait selon les auteurs être expliquée par la différence de cellules employées (cellules buccales *versus* leucocytes) ou par la durée d'exposition des sujets à cette substance active. Une étude réalisée parmi des sujets sains en Corée a montré des corrélations positives entre les concentrations plasmatiques d'insecticides (DDT, DDE, oxychlordane, *trans*-nonachlore, heptachlore époxyde, β-HCH, HCB et mirex) et un allongement des télomères (Shin et coll., 2010). Aucun lien causal n'a été établi jusqu'à présent par le biais d'études mécanistiques. L'interprétation de ces résultats, raccourcissement ou allongement des télomères, doit donc être considérée avec précaution dans la mesure où ces processus pourraient avoir des rôles fonctionnellement opposés selon qu'il s'agisse de la sénescence des cellules, de l'initiation ou de la progression tumorale (où la télomérase est activée, contribuant au maintien de la longueur des télomères).

Une analyse de la méthylation de l'ADN sur des cellules sanguines a été entreprise parmi 596 hommes participant à la cohorte AHS (Rusiecki et coll., 2017). Les hommes ayant été fortement exposés à des pesticides présentaient un taux plus élevé de méthylations du promoteur (région CpG7) du gène codant la GSTp1 (*Glutathion-S-transferase p1*) et dans certains sous-groupes (en fonction de leurs concentrations plasmatiques en folates) des taux réduits de méthylation sur le promoteur (régions CpG2 et CpG3) du gène *MGMT* (*O-6-Methylguanine-DNA Methyltransferase*) ainsi que sur l'un des promoteurs contenus dans l'élément transposable LINE-1 (*Long Interspersed Element-1*). La méthylation des promoteurs de gènes est classiquement associée à une répression de l'expression du gène correspondant. Dans le cas de la prostate, la diminution de l'expression de la GSTp1 a été associée à une augmentation de la survie des cellules tumorales (Mian et coll., 2016). La GSTp1 en tant qu'enzyme du métabolisme des xénobiotiques de phase II, contribue à conjuguer des métabolites activés par les enzymes de phase I et potentiellement toxiques. Un équilibre entre ces deux activités semble essentiel pour limiter le risque de cancer (Morel et Barouki, 1999).

Chlordécone et cancer de la prostate

Caractéristiques du cancer de la prostate aux Antilles

Incidence des cancers aux Antilles

La situation épidémiologique du cancer aux Antilles est renseignée depuis 1983, avec la mise en place du Registre général des cancers en Martinique et avec les données de mortalité fournies par le Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès de l'Inserm (Inserm-CépiDc). Le Registre général des cancers de la Guadeloupe (incluant les Îles du Nord : Saint-Martin et Saint-Barthélemy) a commencé sa collecte en 2008. Aux Antilles, les taux d'incidence des cancers, toutes localisations confondues, autant chez l'homme que chez la femme, sont globalement inférieurs à ceux estimés en France métropolitaine (sous-incidence de 13 % chez les hommes et 47 % chez les femmes en Guadeloupe et de 15 et 34 % respectivement en Martinique) (Deloumeaux et coll., 2019 ; Joachim-Contaret et coll., 2019). Ces taux d'incidence plus faibles sont observés pour la plupart des localisations, en particulier le poumon, le côlon-rectum et le sein. À l'inverse, certaines localisations de cancers ont un taux d'incidence plus élevé qu'en France métropolitaine comme le cancer du col de l'utérus, de l'estomac, les myélomes multiples ou le cancer de la prostate.

Au cours des dernières décennies, d'après les données du registre des cancers de la Martinique, le taux d'incidence des cancers, toutes localisations confondues, a augmenté régulièrement (Dieye et coll., 2014). Parmi les explications possibles figurent l'accroissement et le vieillissement de la population, l'amélioration des procédures de diagnostic, l'occidentalisation des modes de vie et d'alimentation et l'augmentation de la prévalence du tabagisme. Cependant, les tendances évolutives sont hétérogènes selon les localisations de cancer, avec une augmentation notable de l'incidence du cancer de la prostate, du sein et du colon-rectum, alors qu'une tendance à la baisse est observée pour les cancers de l'estomac et du col de l'utérus.

La mortalité par cancer, toutes localisations confondues, est également inférieure à celle estimée en France métropolitaine chez l'homme et la femme (sous-mortalité de 19 % chez les hommes et 14 % chez les femmes en Guadeloupe et de 18 % et 8 % respectivement en Martinique) (Deloumeaux et coll., 2019 ; Joachim-Contaret et coll., 2019).

Le cancer de la prostate aux Antilles

- ***Incidence et mortalité***

En Guadeloupe et en Martinique, le taux d'incidence du cancer de la prostate (standardisé sur l'âge de la population mondiale) est respectivement de 173 et de 164 pour 100 000 personnes-années sur la période 2007-2014 Deloumeaux et coll., 2019 ; Joachim-Contaret et coll., 2019). Ce taux d'incidence aux Antilles est près de deux fois supérieur au taux d'incidence estimé en France métropolitaine sur la même période (88,8 pour 100 000 personnes-années). Le rapport d'incidence standardisé (SIR) est de 1,91 [1,85-1,97] en Guadeloupe et de 1,79 [1,73-1,84] en Martinique. Cette sur-incidence n'est pas surprenante car il est connu que les populations dont les origines remontent à l'Afrique subsaharienne présentent, plus que tout autre groupe ethnogéographique, un risque élevé de développer la maladie. De fait, l'incidence du cancer de la prostate aux Antilles est du même ordre que celle observée chez les populations afro-américaines aux États-Unis et afro-caribéennes et africaines résidant au Royaume-Uni (Ben-Shlomo et coll., 2008 ; Forman et coll., 2013).

Aux Antilles, l'âge médian au diagnostic (68 ans) du cancer de la prostate est légèrement inférieur à celui observé en France métropolitaine (70 ans). On note une proportion plus élevée de cas chez les moins de 50 ans aux Antilles. Ils représentent 2,2 % des cas en Guadeloupe *versus* 0,9 % en France métropolitaine. La courbe transversale par âge montre un taux d'incidence qui augmente à partir de 50-55 ans pour atteindre un maximum entre 75 et 79 ans en Guadeloupe et entre 70 et 75 ans en Martinique (Multigner et coll., 2016).

La mortalité par cancer de la prostate aux Antilles sur la période 2007-2014 est également plus élevée que celle de la métropole (23 en Guadeloupe et Martinique, *versus* 10 pour 100 000 personnes-années en France métropolitaine) (Deloumeaux et coll., 2019 ; Joachim-Contaret et coll., 2019).

Les tendances évolutives de l'incidence du cancer de la prostate aux Antilles ont été estimées initialement par le registre des cancers de la Martinique (Dieye et coll., 2014). En Martinique, entre 1981 et 2005, l'incidence a augmenté de manière assez régulière et en moyenne de 5 % par an. En Guadeloupe, la création récente du registre des cancers ne permet pas de disposer d'un recul suffisant. Néanmoins, une étude basée sur un recueil exhaustif de données, provenant de l'ensemble des laboratoires d'anatomopathologie de la Guadeloupe, a permis d'estimer l'incidence et son évolution entre 1995 et 2003 (Mallick et coll., 2005). De 1995 à 2001, le taux d'incidence, standardisé sur la population mondiale, se situait en moyenne aux alentours de

93 pour 100 000 personnes-années (ce qui correspond en moyenne à 235 nouveaux cas annuels). Puis, de 2001 à 2003, le taux d'incidence a brusquement augmenté pour atteindre 168,7 pour 100 000 personnes-années en 2013 (correspondant à 427 nouveaux cas), puis se stabiliser aux valeurs actuelles. Cette évolution sur une période de 3 ans, coïncide avec la création en Guadeloupe d'un poste hospitalo-universitaire en urologie. La promotion du dépistage précoce individuel et l'amélioration de la prise en charge du cancer de la prostate dans ce territoire sont susceptibles d'expliquer en grande partie cette progression soudaine (Mallick et coll., 2005).

- ***Caractéristiques clinico-pathologiques***

Comme en France métropolitaine, l'adénocarcinome représente le type histologique prépondérant des tumeurs de la prostate aux Antilles. Des études ont suggéré que le cancer de la prostate chez les populations afro-américaines aux États-Unis, serait plus agressif, de moins bon pronostic et avec une moins bonne réponse aux traitements que chez les Caucasiens. Toutefois, les inégalités sociales et économiques, y compris d'accès aux soins et au diagnostic précoce individuel du cancer de la prostate, qui frappent cette minorité, rendent encore incertaines de telles conclusions. Par analogie avec les Afro-Américains, on suspecte que le cancer de la prostate chez les Antillais soit également plus agressif que chez les Caucasiens. Cependant, les caractéristiques clinico-pathologiques au diagnostic et celles observées lors de la récidive biologique de la maladie, après traitement des formes localisées par prostatectomie radicale, sont comparables à celles observées dans d'autres populations (Brureau et coll., 2009 ; Brureau et coll., 2018). Une étude récente montre que les tumeurs prostatiques, à un stade localisé de la maladie, mais considérées comme localement agressives[40], se caractérisent par une délétion plus fréquente dans la région 1q41-43 englobant le gène de réparation de l'ADN *PARP1* (poly(ADP-ribose) polymérase 1), ainsi qu'une proportion plus élevée de réarrangements intrachromosomiques, y compris des duplications associées aux mutations de troncature des CDK12 (*cyclin-dependant kinase 12*) dans des populations antillaises (et résidentes aux Antilles) comparées à celles provenant de patients d'origine caucasienne (résidents en France métropolitaine) (Tonon et coll., 2019).

40. Score ISUP (*International Society of Urological Pathology*) > 3 déterminé sur pièce de prostatectomie.

Données épidémiologiques

Le chlordécone est un insecticide organochloré utilisé intensivement aux Antilles françaises de 1973 à 1993 pour lutter contre le charançon du bananier. Du fait de la pollution rémanente des sols, de la contamination des eaux (de surface et profondes), du littoral et de la chaîne alimentaire, la population est actuellement toujours exposée au chlordécone. Le chlordécone est reconnu comme une substance neurotoxique, toxique pour la reproduction et cancérogène (ATSDR, 1995 ; Faroon et coll., 1995 ; EPA, 2009). De par ses propriétés hormonales œstrogéniques bien établies, il est également considéré comme un perturbateur endocrinien. Des études épidémiologiques ont été entreprises ces dernières années aux Antilles pour identifier les risques sanitaires que cette pollution pourrait entraîner.

Tenant compte de la contamination de la population au chlordécone et des données toxicologiques existantes sur le potentiel cancérigène de la molécule, la question des effets sanitaires s'est naturellement posée concernant les cancers. En raison de la fréquence de certaines localisations tumorales aux Antilles et des propriétés hormonales bien établies du chlordécone, un programme de recherche (Karuprostate) a été mis en place en 2003 en Guadeloupe afin d'identifier les facteurs de risque génétiques et environnementaux du cancer de la prostate aux Antilles. Au sein de ce programme conduit par des chercheurs de l'Inserm et des cliniciens du CHU de la Guadeloupe, deux études ont été réalisées. L'une de type cas-témoins en population générale a été réalisée avec comme objectif spécifique de tester l'hypothèse d'une association entre l'exposition au chlordécone et le risque de survenue du cancer de la prostate (Multigner et coll., 2010). Tenant compte de l'âge médian avancé de survenue du cancer de la prostate et de la période de latence prévisible entre le début de l'exposition et l'apparition de la maladie, ce type d'étude a été retenu pour apporter des éléments de réponse dans un délai raisonnable, contrairement à une étude de cohorte prospective qui aurait nécessité un suivi sur de très nombreuses années avant de pouvoir aboutir à des résultats. L'autre étude était une étude de cohorte avec un suivi prospectif longitudinal et avait comme objectif spécifique d'étudier l'hypothèse d'une association entre l'exposition au chlordécone et le risque de récidive biologique de cancer de la prostate chez des patients ayant eu comme traitement initial curatif une prostatectomie radicale (Brureau et coll., 2019).

Étude cas-témoins Karuprostate

- ***Méthodes***

Sept cent neuf patients (cas incidents) atteints de cancer de la prostate ont été comparés à 723 hommes exempts de la maladie (groupe témoin). Les cas, dont le diagnostic d'adénocarcinome a été confirmé par examen histopathologique, ont été inclus successivement au cours de la période 2004-2007, au cours des 3 mois suivant le diagnostic et avant tout début de traitement. Les patients provenaient des établissements de santé publics (CHU de la Guadeloupe) et privés (Clinique Saint-Pierre à Basse-Terre) de la Guadeloupe, couvrant 80 % des cas incidents. Seul un établissement privé situé à Pointe-à-Pitre n'a pas participé. Les témoins ont été recrutés au cours de la même période, parmi un échantillon représentatif de l'ensemble des assurés sociaux du département, en tenant compte de la population des communes de résidence et sans distinction de catégorie sociale, convoqués annuellement au Centre d'examens de santé de la Guadeloupe.

L'étude n'a pas été proposée à ceux qui ne résidaient pas en Guadeloupe ou qui prenaient ou avaient pris des médications hormonales (y compris les traitements à base d'inhibiteurs de la 5α-réductase). Le taux de participation chez les cas a été de 98 % et chez les témoins de 90 %. Seuls les sujets présentant un toucher rectal strictement normal, une concentration plasmatique en PSA en dessous d'un seuil de référence défini en fonction de l'âge (75^{e} percentile de la distribution de la concentration plasmatique en PSA, observé chez une population d'ascendance africaine sans cancer de la prostate) (Morgan et coll., 1996), et ayant au moins un parent (père ou mère) né aux Antilles françaises ou dans une île de la Caraïbe – dont les populations sont majoritairement d'ascendance africaine (notamment Haïti et Dominique) – ont été retenus dans l'analyse des données.

Pour tous les participants, des informations ont été recueillies, à l'aide d'un questionnaire structuré et standardisé, sur leurs caractéristiques sociodémographiques, anthropométriques et professionnelles, leur parcours résidentiel depuis la naissance, leur style de vie et leurs antécédents médicaux personnels et familiaux. Un prélèvement à jeun de sang veineux périphérique a permis de réaliser le dosage du PSA chez les témoins, ainsi que ceux du chlordécone et autres polluants persistants et des lipides plasmatiques (cholestérol et triglycérides) chez les cas et témoins.

L'exposition au chlordécone a été estimée par son dosage dans le sang (plasma) avec une limite de détection analytique (LD) de 0,25 µg/l. Les prélèvements de sang ont été obtenus avant tout début de traitement pour les cas et le jour où a été réalisé le dosage du PSA chez les témoins. Les sujets ont été classés en fonction de la répartition de la concentration plasmatique en chlordécone chez les témoins. Le groupe de référence a été constitué par ceux ayant des valeurs égales ou en dessous de la LD. Les individus ayant des valeurs supérieures à la LD ont été classés en terciles. Sous l'hypothèse d'une exposition constante au cours du temps, un indicateur d'exposition cumulé a été construit en multipliant la concentration plasmatique en chlordécone par le nombre d'années de résidence aux Antilles depuis 1973 (date de l'introduction du chlordécone), jusqu'à la date du prélèvement sanguin. Cet indicateur n'a été appliqué qu'aux sujets ayant une concentration plasmatique en chlordécone supérieure à la LD. Les sujets ont été classés en quartiles en fonction de la répartition de cet indicateur chez les témoins, le premier quartile constituant le groupe de référence. Des polymorphismes fonctionnels de type SNP (rs3829125 et rs17134592) fortement corrélés ($D' = 1$; $r^2 = 1$) du gène de la chlordécone réductase (*AKR1C4*) (Kume et coll., 1999), enzyme hépatique intervenant dans la réduction de la fonction cétone et de ce fait dans l'élimination du chlordécone après glucuroconjugaison, ont été typés. Tenant compte de la faible fréquence des allèles variants dans la population d'étude (< 4 %), le risque a été calculé pour les sujets présentant des concentrations en chlordécone au-dessus de la LD, en comparant aux sujets présentant des concentrations en chlordécone en dessous de la LD. La mesure de l'association entre l'exposition au chlordécone et la probabilité de survenue de la maladie a été réalisée par le calcul de l'*odds ratio* (OR) et de son intervalle de confiance à 95 % (IC 95 %) à l'aide d'une régression logistique. Cette procédure a permis la prise en compte de facteurs potentiels de confusion ou d'interaction, notamment : âge, lieu de naissance, lieux de naissance des parents, lieux de résidence, caractéristiques anthropométriques dont l'indice de masse corporelle et le rapport tour de taille sur tour de hanche, niveau de scolarité, métiers exercés, usage professionnel ou non professionnel de pesticides, antécédents familiaux de cancer de la prostate, antécédents médicaux (notamment diabète, infections virales et infections uro-génitales), taux de lipides plasmatiques, consommation de tabac et d'alcool.

- ***Principaux résultats***

Le chlordécone a été dosé chez 623 patients atteints de cancer de la prostate et 671 témoins pour lesquels un prélèvement de sang a été obtenu et le dosage du chlordécone réalisé avec succès. Le chlordécone a été détecté

chez 69 % des cas et 67 % des témoins. Dans le modèle ajusté, un risque augmenté de survenue de la maladie a été observé lorsque les concentrations plasmatiques en chlordécone dépassaient ~ 1 µg/l (soit 2 mM) (3e tercile pour les valeurs supérieures à la LD comparé au groupe de référence en dessous de la LD ; OR = 1,77 ; IC 95 % [1,21-2,58]) (tableau 12.I). En utilisant les valeurs du chlordécone comme variable continue (valeurs en dessous de la LD remplacées par la LD/2), une relation dose-effet positive a été retrouvée (p de tendance linéaire < 0,002). En employant l'indicateur cumulé d'exposition, un risque augmenté de survenue de la maladie a été observé pour les sujets situés dans le quatrième quartile de l'indicateur (le plus élevé) par rapport au premier quartile (OR = 1,73, IC 95 % [1,04-2,88]). En utilisant les valeurs du chlordécone comme variable continue et restreintes aux sujets présentant une concentration plasmatique en chlordécone au-dessus de la LD, une relation dose-effet positive a été trouvée entre cet indicateur cumulé et le risque de survenue d'un cancer de la prostate (p de tendance linéaire < 0,004).

Le risque n'était pas distribué de manière homogène selon certaines caractéristiques individuelles. Il était augmenté pour la classe la plus élevée (4e quartile) d'exposition (chlordécone mesuré dans le plasma), parmi ceux ayant déclaré des antécédents familiaux au premier degré (père, frères) de cancer de la prostate (p d'interaction < 0,001) ou parmi ceux ayant résidé temporairement (plus d'un an) dans un pays occidental/industrialisé (majoritairement France métropolitaine) avant la survenue de la maladie (p d'interaction < 0,001). En stratifiant simultanément sur les deux facteurs précités et en dichotomisant l'exposition (< LD comme groupe de référence *versus* > LD), les sujets déclarant une histoire positive d'antécédents familiaux au premier degré de cancer de la prostate et une résidence temporaire dans un pays occidental présentaient un risque augmenté de développer la maladie (OR = 4,94 ; IC 95 % [1,15-21,23]) (tableaux 12.II et III). Par ailleurs, en dichotomisant l'exposition (< LD comme groupe de référence *versus* > LD), le risque de survenue du cancer de la prostate, bien que non statistiquement significatif, était augmenté chez les sujets porteurs d'allèles variants G des polymorphismes fonctionnels de la chlordécone réductase (OR = 5,2 ; IC 95 % [0,8-33,3]), le risque chez les porteurs des variants sauvages C étant de 1,30 (IC 95 % [0,91-1,85]).

En utilisant un indicateur composite d'agressivité[41] (Cussenot et coll., 2007) et un modèle de régression polytomique à plusieurs modalités (témoins

41. Fort potentiel d'agressivité : PSA < 30 ng/ml ou stade clinique T3 ou T4 ou score de Gleason sur biopsie 4+3 ou supérieur ; Faible potentiel d'agressivité : PSA > 30 ng/ml et stade clinique T1c ou T2 et score de Gleason 3+4 ou inférieur.

comme groupe de référence, cas peu agressifs, cas agressifs), le risque de survenue a été retrouvé augmenté de manière significative chez les cas présentant une forme agressive de la maladie (OR = 2,16 ; IC 95 % [1,33-3,51] pour le 3e tercile des valeurs supérieures à la LD comparé au groupe de référence en dessous de la LD) avec une relation dose-effet en utilisant l'exposition comme variable continue (p de tendance linéaire = 0,004). Pour les formes moins agressives, le risque associé au 3e tercile était augmenté, mais à la limite de la signification statistique (OR = 1,45 ; IC 95 % [0,96-2,19]) et en utilisant l'exposition comme continue le p de tendance linéaire était de 0,04.

Sur la base de cette première publication (Multigner et coll., 2010) et en considérant les données toxicologiques et mécanistiques disponibles à ce moment-là, l'expertise collective de l'Inserm en 2013 avait conclu à une présomption forte d'un lien entre l'exposition au chlordécone et la survenue du cancer de la prostate.

Les données acquises lors de cette étude ont fait ultérieurement l'objet d'analyses complémentaires (Emeville et coll., 2015) (tableau 12.IV) où : *i*) la LD du chlordécone a été améliorée, après validation des cartes de contrôles, à 0,06 µg/l ; *ii*) l'amélioration de la LD a permis le classement des expositions en quintiles en fonction de la répartition du chlordécone plasmatique chez les témoins ; *iii*) 31 autres polluants organochlorés persistants, notamment des PCB et le DDE, ont été dosés et pris en compte dans les modèles d'ajustement ; *iv*) les covariables manquantes ont été remplacées par des procédures d'imputation multiples ; *v*) les valeurs des divers polluants en dessous de la LD ont été estimées par imputation simple. Dans le modèle ajusté, un risque augmenté de survenue de la maladie était observé lorsque les concentrations en chlordécone dépassaient ~1 µg/l (5e quintile) comparé au groupe de référence (1er quintile) (OR = 1,65 ; IC 95 % [1,09-2,48], p de tendance = 0,01 ; ajusté sur DDE, OR = 1,64 ; IC 95 % [1,09-2,47], p de tendance = 0,01 ; ajusté sur PCB-153, OR = 1,70 ; IC 95 % [1,12-2,56], p de tendance = 0,008). Une relation dose-effet positive a été trouvée entre l'exposition au chlordécone (continue) et le risque de survenue d'un cancer de la prostate (p = 0,01 ; ajusté sur DDE, p = 0,01 ; ajusté sur PCB-153, p = 0,008).

Tableau 12.I : Exposition au chlordécone et risque de cancer de la prostate (d'après Multigner et coll., 2010)

Concentration plasmatique (µg/l)	Cas/Témoins (n)	OR $_{ajusté*}$ [IC 95 %]	Indicateur cumulé d'exposition (quartiles)	Cas/ Témoins (n)	OR $_{ajusté*}$ [IC 95 %]
< 0,25	195/223	1,00	1er	88/112	1,00
> 0,25-0,47	128/150	1,11 [0,75-1,65]	2e	101/112	1,06 [0,62-1,82]
> 0,47-0,96	139/149	1,22 [0,82-1,83]	3e	101/112	1,23 [0,72-2,11]
> 0,96	161/149	1,77 [1,21-2,58]	4e	134/112	1,73 [1,04-2,88]
		$p_{de\ tendance}$ = 0,002			$p_{de\ tendance}$ = 0,004

* Ajusté à l'âge, rapport tour de taille/tour de hanche, antécédents de diagnostic individuel et précoce de cancer de la prostate, concentration plasmatique en lipides

Tableau 12.II : Exposition au chlordécone, risque de cancer de la prostate et interactions avec les antécédents familiaux de cancer de la prostate (d'après Multigner et coll., 2010)

Concentration plasmatique (µg/l)	Sans antécédents familiaux de cancer de la prostate		Avec antécédents familiaux de cancer de la prostate		
	Cas/Témoins (n)	OR $_{ajusté*}$ [IC 95 %]	Cas/ Témoins (n)	OR $_{ajusté*}$ [IC 95 %]	$P_{interaction}$
< 0,25	116/161	1,00	45/26	1,00	
> 0,25-0,47	78/111	1,35 [0,80-2,26]	26/19	0,97 [0,33-2,83]	
> 0,47-0,96	81/115	1,13 [0,66-1,95]	34/8	3,22 [1,03-10,1]	
> 0,96	68/123	1,27 [0,76-2,13]	45/14	3,00 [1,12-8,07]	< 0,01
		$p_{de\ tendance}$ > 0,05		$p_{de\ tendance}$ = 0,03	

* Ajusté à l'âge, rapport tour de taille/tour de hanche, antécédents de diagnostic individuel et précoce de cancer de la prostate, concentration plasmatique en lipides

Tableau 12.III : Exposition au chlordécone, risque de cancer de la prostate et interactions avec un séjour dans un pays occidental (d'après Multigner et coll., 2010)

Concentration plasmatique (µg/l)	Sans séjour antérieur dans un pays occidental		Avec séjour antérieur dans un pays occidental		
	Cas/Témoins (n)	OR $_{ajusté*}$ [IC 95 %]	Cas/Témoins (n)	OR $_{ajusté*}$ [IC 95 %]	$P_{interaction}$
< 0,25	137/165	1,00	58/56	1,00	
> 0,25-0,47	87/116	1,09 [0,68-1,74]	41/34	1,15 [0,53-2,48]	
> 0,47-0,96	103/110	1,12 [0,69-1,82]	36/39	1,33 [0,62-2,86]	
> 0,96	110/118	1,53 [0,98-2,39]	51/31	2,71 [1,26-5,83]	< 0,01
		$p_{de\ tendance}$ > 0,05		$p_{de\ tendance}$ < 0,01	

* Ajusté à l'âge, rapport tour de taille/tour de hanche, antécédents de diagnostic individuel et précoce de cancer de la prostate, concentration plasmatique en lipides

Tableau 12.IV : Exposition au chlordécone et risque de cancer de la prostate (d'après Emeville et coll., 2015)

Concentration plasmatique (µg/l)	Cas/Témoins (n)	OR $_{\text{ajusté}*}$ [IC 95 %]	OR $_{\text{ajusté}*+\text{DDE}}$ [IC 95 %]	OR $_{\text{ajusté}*+\text{PCB153}}$ [IC 95 %]
< 0,13	132/113	1,00	1,00	1,00
> 0,13-0,30	128/85	1,00 [0,65-1,54]	1,01 [0,66-1,56]	0,98 [0,64-1,52]
> 0,30-0,51	131/127	1,47 [0,98-2,21]	1,48 [0,99-2,22]	1,51 [1,01-2,27]
> 0,51-1,02	134/121	1,41 [0,93-2,13]	1,41 [0,93-2,12]	1,45 [0,96-2,27]
> 1,02	130/130	1,65 [1,09-2,48]	1,64 [1,09-2,47]	1,67 [1,12-2,56]
		$p_{\text{de tendance}} = 0,01$	$p_{\text{de tendance}} = 0,01$	$p_{\text{de tendance}} < 0,01$

* Ajusté à l'âge, rapport tour de taille/tour de hanche, antécédents de diagnostic individuel et précoce de cancer de la prostate, concentration plasmatique en lipides. Remplacement des données manquantes par imputation multiple (équations chaînées, MICE)

- ***Limites***

Les études de type cas-témoins sont de nature rétrospective. Elles peuvent être affectées par des biais, difficiles à supprimer totalement même en prenant de multiples précautions. Cependant, les procédures employées pour la sélection des cas incidents et des témoins, couplées au taux élevé de participation autant chez les cas que chez les témoins, tout comme celles utilisées pour classer les sujets en fonction de la présence ou absence de la maladie, devraient avoir réduit considérablement les biais éventuels de sélection et de classement sur la maladie.

S'agissant de l'évaluation de l'exposition, la concentration plasmatique en chlordécone est connue pour être un bon reflet de la charge corporelle à un instant donné (Cohn et coll., 1978). Mais cette mesure reflète-t-elle correctement l'exposition passée ? Le chlordécone est un polluant persistant dans l'organisme avec des durées de demi-vie variables en fonction de l'organe ou tissu considéré. Dans le sang, cette demi-vie a été estimée à environ 6 mois lorsque l'exposition externe cesse totalement. La mise en évidence, dès 1975, de sols contaminés destinés à des cultures alimentaires susceptibles d'accumuler la molécule (Snegaroff, 1977), suggère que la population générale a pu être contaminée depuis cette période. L'utilisation légale du chlordécone a été interrompue définitivement en 1993, mais la pollution de sols – site primaire de stockage de la molécule à l'origine de la contamination de la chaîne trophique – s'est maintenue jusqu'à nos jours. Les premières mesures visant à réduire l'exposition de la population ont été prises en 2000 et ne concernaient que l'installation de filtres à charbon pour les eaux de consommation au robinet. Ces mesures, bien qu'indispensables, sont de portée limitée dans la mesure où les niveaux de contamination des eaux de consommation par le chlordécone sont bien plus faibles que ceux présents dans les denrées alimentaires, et contribuent donc faiblement à la charge corporelle.

Les arrêtés préfectoraux, mis en place en 2003 mais appliqués efficacement qu'au cours des années suivantes (Beaugendre, 2005), visant à limiter la production de certaines denrées alimentaires (légumes racines) cultivées sur des sols pollués, ont sûrement eu des effets plus conséquents. Mais compte tenu de la période d'inclusion des participants à l'étude (2004-2007), les effets de ces mesures n'ont pu être que relativement modestes. Il est donc vraisemblable, sous l'hypothèse d'un apport constant de denrées alimentaires locales au cours des dernières décennies, que les concentrations plasmatiques en chlordécone mesurées chez les participants reflètent, en moyenne, leur exposition au cours des années précédentes quelles que soient la voie ou les circonstances d'exposition.

Un très grand nombre de pesticides organochlorés ont commencé à être employés vers le milieu du XX^{e} siècle. La plupart des études épidémiologiques portant sur ces pesticides et le risque de survenue de pathologies tumorales se trouvent confrontés à la difficulté de pouvoir différencier le rôle des expositions au cours de la vie postnatale de celles qui auraient pu se produire lors de la période prénatale. Tenant compte de l'âge des sujets inclus dans l'étude cas-témoins Karuprostate, en 1973, date de première utilisation du chlordécone aux Antilles, le plus jeune avait 14 ans et 95 % des participants plus de 19 ans. Cela permet de relier les associations observées à une exposition postnatale à l'âge adulte et d'écarter toute influence d'une exposition prénatale au cours de la grossesse.

De nombreux organochlorés s'accumulent préférentiellement dans les compartiments graisseux. Toutefois, le chlordécone, étant donnée son hydrophobicité élevée (estimée par le coefficient de partage eau-octanol, *Kow* ; *log Kow* = 4,51), s'accumule moins dans les graisses périphériques comparé à d'autres polluants de *Kow* similaire (voir addenda en fin de chapitre : paragraphe « Toxicocinétique et métabolisme »). L'homme est moins concerné que la femme par les grands processus mobilisateurs des graisses de stockage, tels que la grossesse ou l'allaitement. Par ailleurs, dans une population où, pour les tranches d'âge considérées dans l'étude, la prévalence de l'obésité est faible aux Antilles (de l'ordre de 11 %), les variations éventuelles de la masse graisseuse (et de ce fait de la répartition du chlordécone dans les tissus) ne devraient pas avoir eu un impact important sur les concentrations plasmatiques observées. Il faut noter également que le cancer de la prostate n'est pas une pathologie qui se caractérise par une perte de poids (seuls les cas très avancés de la maladie, voire métastatiques, sont potentiellement concernés par des pertes significatives de poids). Néanmoins, les lipides plasmatiques ont été pris en considération dans les ajustements des modèles statistiques et non pas en les exprimant par rapport à la concentration de

lipides dans le sang, cette approche pouvant entraîner des biais (Porta et coll., 2009). L'ensemble de ces caractéristiques réduisent les biais de classement de l'exposition estimée par la mesure de sa concentration dans le sang.

De nombreux facteurs potentiels de confusion ont été considérés (voir méthodes ci-dessus) limitant ainsi les erreurs dans l'estimation des mesures des associations. Une attention particulière a été portée par les auteurs à certains aspects critiques, notamment le biais de confusion représenté par les dépistages précoces individuels du cancer de la prostate[42] antérieurs à celui qui a permis de diagnostiquer un adénocarcinome. Cet aspect a été bien argumenté dans la littérature, en particulier dans les situations où le nombre de cas inclus dans l'étude aurait été moindre sans la présence d'un dépistage (Joffe, 2003 ; Weiss, 2003a et b ; Adolfsson, 2007). Les études réalisées sur des autopsies ont confirmé l'existence de lésions tumorales prostatiques croissantes avec l'âge, affectant 5 % des hommes avant 30 ans et augmentant avec l'âge pour atteindre 60 % à partir de 80 ans (Rich, 1935 ; Zlotta et coll., 2013 ; Bell et coll., 2015). Ces lésions, dont les pourcentages dépassent largement le risque cumulé de cancer de la prostate (IARC, 2014), sont considérées dans leur grande majorité comme indolentes et propres à l'histoire naturelle de la prostate. C'est ainsi que les hommes qui se font pratiquer régulièrement un dosage de PSA sont plus à même d'avoir un diagnostic d'adénocarcinome sur de telles lésions et qui peuvent ne pas toujours être liées à l'exposition d'intérêt. Un autre aspect important pris en considération est celui de l'obésité. L'obésité estimée par l'indice de masse corporelle n'était pas associée ni avec l'exposition au chlordécone ni au risque de survenue de la maladie. En revanche, l'obésité dite centrale ou abdominale, estimée par le rapport tour de taille/tour de hanche, était inversement associée aux concentrations plasmatiques en chlordécone et positivement associée au risque de survenue de la maladie, et de ce fait prise en compte dans les ajustements.

L'hétérogénéité du risque en fonction des antécédents familiaux de cancer de la prostate pourrait être expliquée par la présence de facteurs de susceptibilité génétiques communs à la maladie et à la sensibilité à l'exposition au chlordécone, mais aussi par des facteurs de risque environnementaux de la maladie partagés par les membres d'une même famille. Une telle interaction avec certains pesticides et le risque de survenue du cancer de la prostate a déjà été rapportée dans la littérature (Alavanja et coll., 2003 ; Mahajan et coll., 2006b ; Lynch et coll., 2009 ; Christensen et coll., 2010).

42. Combinaison du dosage du PSA et du toucher rectal et suivi, le cas échéant par des biopsies prostatiques.

L'influence d'une période temporaire de résidence dans un pays occidental n'est pas surprenante. Il a été montré que les populations migrantes, notamment asiatiques, vers des pays occidentaux (États-Unis, Australie, Europe), présentent à la génération suivante une incidence du cancer de la prostate fortement augmentée par rapport à celles constatées dans leurs régions d'origine (Hsing et Devesa, 2001). Si l'amélioration de l'accès aux soins et aux procédures de diagnostic peut expliquer de telles variations, l'influence de facteurs environnementaux liés aux modes de vie des pays occidentaux a été également avancée. À partir des années 1960, une forte immigration d'Antillais vers la métropole s'est produite, et certains d'entre eux sont retournés aux Antilles des années plus tard. Dans la population d'étude, près de 27 % des participants (23,9 % chez les témoins et 29,9 % chez les cas) ont déclaré avoir séjourné temporairement en métropole pendant une période supérieure à un an (en moyenne 14 années). Si l'on tient compte de l'âge médian des participants au départ (20 ans) et au retour (34 ans), la majorité des individus est retournée aux Antilles avant la fin des années 1970. Autrement dit, la période de résidence dans un pays occidental de la population d'étude a précédé, pour la grande majorité d'entre eux, le début de l'exposition au chlordécone (à partir de 1973). Dans l'étude cas-témoins Karuprostate, le fait d'avoir résidé temporairement dans un pays occidental a été retrouvé associé à un risque augmenté de survenue du cancer de la prostate en Guadeloupe (OR = 1,4 ; IC 95 % [1,2-2,0] ; modèle ajusté sur l'âge, le niveau d'éducation, le lieu de naissance du sujet et des parents et le nombre de dosage de PSA antérieurs) (Multigner et coll., 2009). L'interprétation d'un risque accru chez ceux qui ont résidé dans un pays occidental et ont été exposés au chlordécone est délicate et on ne peut à ce stade que soulever des hypothèses. Parmi ces dernières, on peut évoquer l'influence d'expositions environnementales acquises lors de la période de migration, telles que la co-exposition à d'autres polluants chimiques susceptibles de favoriser la survenue de la maladie et qui agiraient en synergie avec le chlordécone. Cela ne semble pas être le cas pour de nombreuses molécules organochlorées telles que le DDE et les PCB (Emeville et coll., 2015). Une autre hypothèse concernerait les modifications des comportements alimentaires des populations antillaises à l'occasion de leur séjour dans un pays à mode de vie occidental. D'une alimentation traditionnelle antillaise, riche en poissons, fruits et légumes racines à faible index glycémique, les populations migrantes se sont vues confrontées à une alimentation dite occidentalisée (*Western diet*). Certains aspects de cette alimentation, à forte teneur en graisses animales et en laitages, ont été associés à un risque accru de survenue de cancer de la prostate (Chan et coll., 2005). L'adoption d'un tel régime à

risque, au cours d'une période de migration moyenne de 14 ans, peut avoir perduré au retour aux Antilles et ainsi contribuer à un risque supplémentaire.

D'autre part, le rôle des polymorphismes fonctionnels de la chlordécone réductase pourrait être expliqué par une différence dans la capacité de métabolisation du chlordécone. Les allèles variants expriment une enzyme caractérisée par une plus faible activité catalytique et une plus lente élimination de la molécule de l'organisme, comparé à l'enzyme exprimée par les allèles sauvages (Molowa et coll., 1986 a et b ; Kume et coll., 1999). Il est également intéressant de souligner que la fonction physiologique de la chlordécone réductase est celle de catalyser la transformation de la dihydrotestostérone (la forme biologiquement active de la testostérone) en un androgène bien plus actif, le 5α-androstane-3α-17β diol (Khanna et coll., 1995 ; Penning et coll., 2000). De ce fait, la présence de variants exprimant une enzyme de plus faible activité catalytique pourrait également jouer un rôle dans le métabolisme des androgènes, et de ce fait dans le cancer de la prostate.

Étude de cohorte Karuprostate

- ***Méthodes***

Cette étude a été réalisée parmi les cas incidents de cancer de la prostate ayant participé à l'étude cas-témoins Karuprostate (décrite ci-dessus) et qui ont fait l'objet d'un traitement initial à visée curative par prostatectomie radicale au CHU de la Guadeloupe (n = 392). Chez 340 patients, un dosage plasmatique de chlordécone a pu être réalisé à la suite du diagnostic et avant tout début de traitement, celui-ci ayant eu lieu de 1 à 3 mois après le diagnostic. Après l'intervention chirurgicale, la pièce opératoire a fait l'objet d'un examen anatomopathologique portant sur le score de Gleason, les marges chirurgicales et le pourcentage de masse tumorale au sein de la prostate. Le bilan d'extension a permis d'établir le stade clinico-pathologique. Tous les patients ont fait l'objet d'un suivi moyennant des visites cliniques couplées à des déterminations de la concentration circulante en PSA : la première dans les six semaines suivant l'intervention, puis tous les 6 mois au cours des 3 premières années et annuellement par la suite. La récidive biologique de cancer de la prostate a été estimée par deux mesures consécutives (généralement à 4 semaines d'intervalle) du PSA dépassant 0,2 ng/ml. Les concentrations plasmatiques en chlordécone ont été classées en quartiles, en fonction de leur distribution parmi les patients. Le temps de l'évènement (récidive biologique) a été déterminé comme étant la durée entre la date de la chirurgie et la date du dosage du PSA qui a défini l'évènement. Les patients qui n'ont pas récidivé, ou perdus de vue, au cours de la période de suivi ont été censurés à la date de leur dernière consultation. La probabilité de récidive

biologique de cancer de la prostate en fonction de l'exposition au chlordécone a été étudiée par la méthode de Kaplan-Meier couplée au test du Log-Rank pour la comparaison des courbes de survie ainsi que par un modèle de Cox permettant le calcul du *Hazard ratio* (HR) et de son intervalle de confiance à 95 % (IC 95 %) et la prise en compte de facteurs de confusion. Ont été considérés comme facteurs potentiels de confusion l'âge, les origines géographiques, le niveau de scolarité, l'indice de masse corporelle, la consommation de tabac et d'alcool, le diabète de type 2, les antécédents familiaux de cancer de la prostate, les lipides plasmatiques, le taux de PSA préopératoire, le stade clinico-pathologique, le score de Gleason sur pièce opératoire, les marges chirurgicales et la densité tumorale. Les variables retenues dans les modèles finaux sont celles qui prédisaient la récidive biologique au seuil α inférieur à 0,05 puis qui ont été retenues suite à une sélection *backward* au seuil α de 0,1. Les données manquantes : 2 (0,6 %) pour le niveau de scolarité, 2 (0,6 %) pour la consommation d'alcool, 2 (0,6 %) pour les antécédents familiaux de cancer de la prostate, 3 (0,9 %) pour la consommation de tabac et 8 (2,5 %) pour le diabète de type 2, ont été remplacées par un indicateur de données manquantes.

- ***Principaux résultats***

Parmi les 340 patients initialement inclus, 14 ont été ensuite exclus des analyses du fait d'un traitement néo-adjuvant (hormonothérapie ou radiothérapie) ou parce que la valeur du PSA, six semaines après l'intervention, n'est pas revenue en dessous de 0,2 ng/ml. Le chlordécone a été détecté chez 80,1 % des patients (LD = 0,02 µg/l). Chez les 326 patients pour qui il y a eu rémission temporaire (PSA < à 0,2 ng/ml à six semaines après l'intervention chirurgicale), 93 (28,5 %) ont présenté une récidive biologique au cours de la période de suivi (durée médiane de suivi de 6,1 années dont 7,3 années pour ceux n'ayant pas récidivé). À 5 ans, le taux de survie sans récidive biologique était de 83,8, 79,8, 86,6 et de 65 % pour les 1er, 2e, 3e et 4e quartiles d'exposition croissante au chlordécone respectivement (Log-Rank test, p de tendance = 0,01). Dans un modèle ajusté, un risque augmenté de récidive biologique de la maladie a été observé pour le 4e quartile d'exposition au chlordécone comparé au 1er quartile (HR = 2,51 ; IC 95 % [1,39-4,56]) (tableau 12.V). En utilisant les valeurs du chlordécone comme variable continue (avec les valeurs en dessous de la LD estimées par imputation simple), une relation dose-effet positive a été retrouvée (p de tendance linéaire = 0,002). Des résultats similaires ont été obtenus après ajustement supplémentaire à deux autres polluants persistants (DDE et PCB153) : HR = 2,32 ; IC 95 % [1,40-4,90] pour le 4e quartile d'exposition au chlordécone comparé au 1er quartile (p de tendance linéaire = 0,002) (tableau 12.V).

À noter que le DDE tout comme le PCB153 n'ont pas été retrouvés associés, ajustés ou pas aux autres polluants persistants, à une modification de risque de survenue de récidive biologique de la maladie. Des résultats similaires ont été observés suite à une analyse de sensibilité excluant les patients présentant un stade clinico-pathologique avancé ou un score de Gleason ISUP de grade 3 ou supérieur ou des marges chirurgicales positives : HR = 2,98 ; IC 95 % [1,06-8,38] pour le 4e quartile d'exposition au chlordécone comparé au 1er quartile dans un modèle ajusté et comprenant le DDE et le PCB153 (p de tendance linéaire = 0,003) (tableau 12.VI).

Tableau 12.V : Exposition au chlordécone et risque de récidive biologique de cancer de la prostate (d'après Brureau et coll., 2019)

Concentration plasmatique (µg/l)	Sans/Avec récidive biologique (n)	OR ajusté * [IC 95 %]	OR ajusté ** [IC 95 %]
< 0,16	62/18	1,00	1,00
0,16-0,37	57/27	1,63 [0,89-2,98]	1,55 [0,81-2,93]
0,38-0,68	64/18	1,03 [0,53-2,00]	0,94 [0,46-1,90]
≥ 0,69	50/30	2,51 [1,39-4,56]	2,62 [1,40-4,90]
		$p_{\text{de tendance}}$=0,002	$p_{\text{de tendance}}$ =0,002

* Ajusté au stade pathologique, au score de Gleason sur pièce opératoire, aux marges chirurgicales, à l'indice de masse corporelle et aux antécédents familiaux de cancer de la prostate

** Ajusté au stade pathologique, au score de Gleason sur pièce opératoire, aux marges chirurgicales, à l'indice de masse corporelle et aux antécédents familiaux de cancer de la prostate, au DDE et au PCB153

Tableau 12.VI : Exposition au chlordécone et risque de récidive biologique de cancer de la prostate. Analyse de sensibilité parmi les patients ayant des marges chirurgicales négatives, un stade clinico-pathologique localisé et un score de Gleason de grade 2 ISUP ou inférieur (d'après Brureau et coll., 2019)

Concentration plasmatique (µg/l)	Sans/Avec récidive biologique (n)	OR ajusté * [IC 95 %]
< 0,16	35/6	1,00
0,16-0,37	43/6	0,61 [0,18-2,09]
0,38-0,68	42/3	0,42 [0,10-1,79]
≥ 0,69	34/15	2,98 [1,06-8,38] $p_{\text{de tendance}}$ =0,003

* Ajusté à l'indice de masse corporelle, aux antécédents familiaux de cancer de la prostate, au DDE et au PCB153

- ***Limites***

Suite à un diagnostic de cancer de la prostate, divers traitements peuvent être proposés en fonction des caractéristiques de la maladie et des caractéristiques individuelles de chaque patient. Pour ceux chez qui la maladie est estimée à l'occasion du diagnostic comme étant confinée à la prostate, l'un des traitements fréquemment proposés est l'ablation totale de la glande prostatique. Cette intervention, à visée curatrice, reçoit le nom de prostatectomie

totale. Si la tumeur est effectivement confinée à la prostate et qu'il n'y a pas de tissu prostatique résiduel après l'intervention chirurgicale, la sécrétion de PSA deviendra indétectable ou extrêmement réduite dans les jours ou semaines suivant l'opération. Néanmoins, chez un certain pourcentage de patients (de 20 à 40 %) on observe, en absence de toute autre symptomatologie, une augmentation de la sécrétion de PSA dans le sang au cours des mois ou des années qui suivent. Cette augmentation du PSA, qui témoigne de la présence et de la croissance de cellules tumorales dans l'organisme, est dénommée récidive biologique de la maladie. Cette constatation biologique incite dans la plupart des cas à une nouvelle ligne de traitement car il est reconnu qu'elle précède fréquemment la survenue de métastases.

Les études de cohorte prospective sont moins affectées par des biais que les études de type cas-témoins rétrospectives. Dans le cadre de cette étude de cohorte, les mesures d'exposition ont été obtenues avant la survenue des évènements de santé analysés (récidive biologique) et peu de temps avant l'intervention chirurgicale. S'agissant d'un polluant persistant, la mesure du chlordécone dans le sang est un bon indicateur de la charge corporelle à l'équilibre et sur une longue période. Toutefois, tenant compte que la contamination au chlordécone provient de la consommation de certaines denrées alimentaires (principalement légumes racines, poissons et viandes d'origines locales), une modification importante des comportements alimentaires (tant sur le plan quantitatif que qualitatif) après l'intervention chirurgicale pourrait modifier les concentrations plasmatiques en chlordécone. Cependant, aucune recommandation diététique spécifique (quantitative ou qualitative) n'est habituellement faite auprès des patients opérés par prostatectomie radicale. Pour de nombreux polluants persistants, il est admis que des modifications importantes du poids corporel peuvent, par redistribution dans les divers compartiments de l'organisme – notamment le compartiment graisseux –, modifier la concentration plasmatique et donc la charge corporelle biologiquement active. Dans le cas présent, de tels évènements sont peu probables et pour deux raisons : d'une part le traitement du cancer de la prostate par prostatectomie radicale tout comme la maladie au stade localisé ne sont pas connus pour entraîner des modifications significatives du poids ; d'autre part, en dépit de son hydrophobicité élevée, le chlordécone est peu lipophile et les changements de poids n'entraînent pas de modifications notables des concentrations plasmatiques (voir addenda en fin de chapitre : paragraphe « Toxicocinétique et métabolisme »).

Comme précédemment évoqué, les patients de la présente cohorte provenaient des cas inclus initialement dans l'étude cas-témoins Karuprostate et qui représentaient à leur tour près de 80 % des cas incidents de cancer de la

prostate en Guadeloupe sur la période d'inclusion. Parmi les cas ayant fait l'objet d'un choix thérapeutique par prostatectomie radicale, près de 90 % ont été opérés au CHU de la Guadeloupe. La récidive biologique a été estimée selon des procédures standardisées (Heidenreich et coll., 2011). De nombreux facteurs potentiels de confusion ont été considérés limitant ainsi les erreurs dans l'estimation des mesures des associations.

Données toxicologiques et mécanistiques

Études de cancérogenèse chez l'animal

En 1958, la Faculté de Médecine de Virginie réalisa, à la demande de la *Allied Chemical Corporation*, des études de toxicité du chlordécone chez diverses espèces animales. Les résultats de ces études, datés du 1er juillet 1961, ont figuré dans le dossier d'autorisation et d'enregistrement du chlordécone comme pesticide aux États-Unis. Suite aux actions judiciaires entamées dans le cadre de l'exposition des travailleurs de l'usine de Hopewell (voir addenda en fin de chapitre), ce dossier fut rendu public et les données publiées (EPA, 1975 ; Jaeger, 1976 ; Larson et coll., 1979). Il a été ainsi rapporté que l'exposition chronique (de 1 à 2 ans) au chlordécone par voie orale (de 0 à 80 ppm dans l'alimentation) chez des rats albinos (40 mâles et 40 femelles) induisait des lésions hépatiques de type carcinome hépatocellulaire, autant chez les mâles (seuls les animaux exposés à la dose de 25 ppm ont été examinés) que chez les femelles (seuls les animaux exposés aux doses de 10 et 25 ppm ont été examinés), alors qu'aucun des animaux témoins ne présentait de lésions tumorales hépatiques, les différences étant statistiquement significatives. Les animaux exposés présentaient d'autres localisations tumorales, mais leur faible nombre ne permettait pas d'établir une différence statistiquement significative par rapport aux animaux témoins. Tenant compte du taux de mortalité élevé parmi les animaux exposés, nombre d'entre eux n'ont pu être correctement examinés. Dans un deuxième essai où les rats ont été exposés par voie orale à la dose unique de 1 ppm, 2 des 10 mâles et 2 des 13 femelles exposés ont développé des lésions tumorales hépatiques (carcinomes) alors qu'aucun des témoins (14 mâles et 17 femelles) ne développa de quelconque lésion tumorale ; cependant le seuil de signification statistique ($\alpha < 5$ %) n'était pas atteint.

Le *National Cancer Institute* (*Carcinogenesis Program, Division of Cancer Cause and Prevention*) (NTP, 1976) entreprit par la suite une étude détaillée de cancérogenèse chez le rat Osborn-Mendel (50 mâles et 50 femelles) et la souris B6C3F1 (50 mâles et 50 femelles), menée sur une période de 80 semaines, à deux doses dans l'alimentation (à 8 et 24 ppm pour les rats

mâles, 18 et 26 ppm pour les rats femelles, 20 et 23 ppm pour les souris mâles et 20 et 40 ppm pour les souris femelles) (NTP, 1976 ; Reuber, 1978 et 1979). La survenue de carcinomes hépatocellulaires a été retrouvée plus élevée, de manière statistiquement significative, chez les rats aux doses les plus élevées et chez les souris à l'ensemble des doses et quel que soit le sexe de l'animal. Cependant, la fréquence d'hépatocarcinomes a été retrouvée plus élevée chez les rats femelles que les mâles et l'inverse chez la souris. D'autres tumeurs ont été signalées chez les animaux traités, mais leur faible nombre n'a pas permis d'établir une différence significative avec les animaux témoins, lesquels par ailleurs n'ont développé aucune tumeur.

Malgré des imprécisions sur les expérimentations dont les protocoles à l'époque ne correspondaient pas aux recommandations actuelles, ces travaux réalisés chez des rongeurs ont servi en grande partie de support à l'évaluation et aux propositions de classement de la cancérogénicité par diverses institutions.

Génotoxicité et mutagenèse

Les études *in vivo* et *in vitro* suggèrent que le chlordécone n'est ni mutagène ni génotoxique. Les essais *in vitro* à court terme (mutations géniques) chez *Salmonella typhimurium* ou *Escherichia coli* (Schoeny et coll., 1979 ; Probst et coll., 1981 ; Mortelmans et coll., 1986) se sont avérés négatifs. Le chlordécone alcool, principal métabolite du chlordécone chez certaines espèces dont l'être humain, n'est pas mutagène chez *S. typhimurium* (Mortelmans et coll., 1986). Le chlordécone a également donné des résultats négatifs lorsqu'il a été testé sur la synthèse d'ADN non programmée dans des cultures primaires d'hépatocytes de rats adultes (Williams, 1980 ; Probst et coll., 1981). L'activité clastogène (aberration de la structure chromosomique) du chlordécone a été étudiée sur des cellules d'ovaire de hamster chinois aboutissant à des observations contradictoires. Bale (1983) a signalé que le traitement à des doses de 2, 4 ou 6 µg/ml produisait des ruptures de chromosomes, des ruptures de chromatides, des chromosomes dicentriques et des échanges chromosomiques. À l'inverse, Galloway et coll. (1987), en utilisant des doses plus élevées (10 à 20 µg/l sans activation métabolique ; 5 à 15 µg/l après activation métabolique [fraction S9 provenant de foie de rat induit par l'Arochlor 1254]) n'ont observé aucune augmentation de morphologie chromosomique anormale. L'effet clastogène potentiel du chlordécone n'a pas été retrouvé sur les cellules germinales mâles de rat dans un essai létal dominant à des doses de 3,6 ou 11,4 mg/kg pc/j par voie orale pendant 5 jours consécutifs (Simon et coll., 1986 et 1978). *Le National Toxicology Program* (NTP, 1976) mentionne cependant que des tests cytogénétiques basés sur des échanges

entre chromatides sœurs et de mutation génique *in vitro* sur cellules de lymphomes de souris se sont avérés positifs. En conclusion, malgré des résultats contradictoires, un effet clastogène est suggéré.

Mécanismes de cancérogenèse

Maslansky et Williams (1981) ont suggéré que le potentiel tumoral des pesticides organochlorés, en absence de génotoxicité, reflète un mécanisme épigénétique, impliquant probablement un effet promotionnel résultant d'une perturbation des communications intercellulaires. Des études *in vivo* ont montré que le chlordécone agit principalement comme promoteur tumoral plutôt que comme initiateur (Sirica et coll., 1989). De la diéthylnitrosamine a été administrée par voie orale à des rats Sprague-Dawley partiellement hépatectomisés, suivie de deux doses sous-cutanées de 0,86 ou 2,6 mg/kg pc/j de chlordécone pendant 27 semaines. La dose plus élevée a entraîné des nodules hépatiques hyperplasiques chez sept des huit mâles initiés et des carcinomes hépatocellulaires chez cinq des six femelles initiées. Aucune activité d'initiation tumorale n'a été observée avec une dose orale unique de 30 mg/kg pc de chlordécone après hépatectomie et suivie d'une promotion par du phénobarbital, qui est un promoteur de cancérogenèse bien connu. Cette capacité du chlordécone à agir comme promoteur tumoral, tout comme à favoriser la progression et l'invasion tumorale est confortée par un ensemble d'autres observations décrites ci-après.

- ***Inhibition des communications intercellulaires***

Le chlordécone inhibe les jonctions lacunaires des cellules CHO (V79 d'ovaires de hamsters chinois) (Tsushimo et coll., 1982) mais aussi des cellules mésenchymateuses palatines embryonnaires (Caldwell et Loch-Caruso, 1992). La perte de leur fonction est fréquemment induite par des promoteurs tumoraux.

- ***Inhibition des jonctions adhérentes***

Le chlordécone perturbe les jonctions adhérentes de cellules épithéliales mammaires humaines en diminuant les taux de protéines transmembranaire de E-cadhérine et sous-membranaire de β-caténine impliquées dans l'adhésion cellulaire (Starcevic et coll., 2001), un phénomène observé dans différents types de cancer, notamment les formes agressives (et précisément pour la prostate) (De Marzo et coll., 1999).

- ***Induction enzymatique de cytochromes***

Il a été observé une induction enzymatique des cytochromes P450, CYP3 (A4) et 2B (1,2,6) hépatocytaires (Mehendale et coll., 1977, Kocarek et coll., 1991 et 1994), tout en transactivant le récepteur nucléaire PXR (Lemaire et coll., 2004 ; Lee et coll., 2008). L'induction des CYP2B et CYP3A est une propriété du phénobarbital. Les effets du phénobarbital sont pléiotropiques et les mécanismes de promotion sont complexes, mais conduisent à la prolifération du réticulum endoplasmique aboutissant à une hyperplasie et une hépatomégalie comme cela est le cas également du chlordécone suggérant que ces deux composés partagent des modes d'action communs.

- ***Augmentation de l'activité de l'ornithine décarboxylase (ODC)***

Une augmentation de l'activité de l'ornithine décarboxylase (ODC) a été observée dans le foie de rats exposés au chlordécone par voie orale (Kitchin et Brown, 1989). L'ODC catalyse la conversion d'ornithine en putrescine, première étape limitante dans la synthèse des polyamines (spermine et spermidine). Les polyamines sont requises pour la croissance et la multiplication des cellules. Elles interviennent dans le contrôle et la fidélité de l'expression génétique (car chargées positivement et interagissant avec l'ADN) et jouent donc un rôle clé pendant la cancérogenèse prostatique (Shukla-Dave et coll., 2016). L'augmentation de sa production ou de son activité est donc parfaitement cohérente avec la promotion tumorale, d'autant que le génome des tumeurs est fréquemment instable.

- ***Inhibition de plusieurs activités ATPases***

Il a été décrit une inhibition de plusieurs activités ATPases, notamment Na^+/K^+, Mg^{2+} et Ca^{2+}, mitochondriales et membranaires (plasmiques) dans de multiples tissus, notamment hépatiques, cérébraux (synaptosomes) et cardiaques (Desaiah et coll., 1977 ; Folmar, 1978 ; Desaiah, 1980 ; Desaiah et coll., 1980 ; Curtis et Mehendale, 1981 ; Curtis, 1988 ; Jinna et coll., 1989). L'inhibition des ATPases mitochondriales par le chlordécone serait susceptible de promouvoir la glycolyse anaérobique et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), ce qui favoriserait à son tour la prolifération et la survie cellulaire (Sanchez-Arago et coll., 2013).

- ***Perturbation de la distribution de Ca^{2+} intracellulaire***

Une perturbation de la distribution de Ca^{2+} intracellulaire participant à l'effet neurotoxique du chlordécone a été décrite (Hoskins et Ho, 1982 ; Komulainen et Bondy, 1987 ; Inoue et coll., 1990). Les auteurs mentionnent que les niveaux de calcium peuvent augmenter dans certains organites comme

la mitochondrie ou le noyau, tout en diminuant dans le cytoplasme. Ils relèvent également des modifications de la distribution entre compartiments intra- et extracellulaires. Par extension, il est donc possible que la distribution de Ca^{2+} dans d'autres tissus soit aussi perturbée par le chlordécone, favorisant certaines voies de signalisation impliquées dans la prolifération cellulaire comme celles des protéines kinases C (PKC).

- ***Perturbation du métabolisme mitochondrial***

L'exposition au chlordécone de cellules tumorales lymphoïdes découple la phosphorylation oxydative mitochondriale et diminue la taille du pool de calcium échangeable mitochondrial, tout en augmentant la constante de vitesse d'efflux de cet organite (Carmines et coll., 1979). Le transport du calcium dans des mitochondries isolées de cerveau de rat est inhibé, *in vivo* et *in vitro*, par le chlordécone (End et coll., 1979). Le métabolisme mitochondrial est primordial pour les cellules tumorales. Cependant, les différentes altérations énergétiques, glycolytiques ou oxydatives, dépendront en partie du stade de développement des cellules subissant une transformation tumorale (Wallace, 2012).

- ***Stimulation de l'activité des protéines kinases C (PKC)***

Les travaux de Rotenberg et coll. (1991) montrent que le chlordécone stimule l'activité PKC en l'absence de Ca^{2+}. L'une des conséquences de cette stimulation est l'augmentation d'expression de l'ornithine décarboxylase (voir plus haut). La stimulation de la PKC intervient également dans la signalisation favorisant la progression tumorale de la prostate (Shiota et coll., 2014 ; Garg et coll., 2017 ; Shiota et coll., 2017).

- ***Propriétés hormonales***

Le chlordécone présente des propriétés œstrogéno-mimétiques : agonistes vis-à-vis de l'ERα, et antagonistes vis-à-vis de l'ERβ (ER : récepteur des œstrogènes) (Palmiter et Mulvihill, 1978 ; Hammond et coll., 1979 ; Kocarek et coll., 1994 ; Lemaire et coll., 2006b). L'ERα est connu pour être impliqué dans les effets indésirables des œstrogènes, tels que la prolifération cellulaire et l'inflammation, tandis que l'ERβ exerce des actions opposées et bénéfiques telles que des effets antiprolifératifs, pro-apoptotiques, anti-inflammatoires et donc potentiellement anticancérigènes (Ellem et Risdbridger, 2009). La prostate humaine exprime ces deux récepteurs, l'ERα s'exprimant préférentiellement dans les cellules du stroma et l'ERβ, dans les cellules épithéliales (Schulze et Claus, 1990 ; Enmark et coll., 1997). L'action combinée des effets agonistes du chlordécone sur les ERα et des effets antagonistes sur les

ERβ pourrait entraîner un déséquilibre, favorisant la prolifération cellulaire (Bonkhoff et Berges, 2009 ; Bonkhoff, 2018). Une étude réalisée chez un poisson cyprinidé de Chine (*Gobiocypris rarus*) indique une induction par le chlordécone de l'ARNm de ERα mais aucune action sur ERβ et sur le récepteur aux androgènes (AR) pour les gonades mâles (Yang et coll., 2016). L'augmentation du ratio E2/T est observée avec toutes les conséquences potentielles évoquées plus haut (cancérogenèse, agressivité des cellules tumorales...) et pourrait être reliée à l'activité agoniste du chlordécone sur le CYP19A (aromatase, une enzyme qui convertit les androgènes en œstrogènes), une interaction retrouvée en analyse de « *docking* » ligand-récepteur.

De plus, chez la souris, le chlordécone interagit de manière indirecte avec les voies de signalisation œstrogéniques. Il induit l'expression dans le tissu utérin murin de Bip, une protéine induite de manière spécifique par l'œstradiol (Ray et coll., 2007). Cette induction facilite la liaison de Bip à l'ERα, permettant de contrôler l'expression de gènes ERα-dépendants. Cela suggère que des protéines comme Bip pourraient agir comme amplificateurs des propriétés œstrogéniques de molécules ayant une faible affinité pour ER. Le chlordécone active également l'expression du gène œstrogéno-sensible de la lactoferrine chez une souris pour laquelle ERα a été inactivé (Das et coll., 1997 et 1998), un effet qui n'est pas inhibé par les antagonistes habituels de ERα. Il se lie et active également le récepteur membranaire aux œstrogènes GPR-30 (Thomas et Dong, 2006). Une étude *in vitro* a par ailleurs montré que le chlordécone inhibe l'activité de l'aromatase de cellules embryonnaires en culture et de fractions microsomiales d'extraits placentaires ou de l'enzyme purifiée (Benachour et coll., 2007).

Concernant les activités hormonales autres que celle des œstrogènes, le chlordécone présente une faible affinité *in vitro* pour le récepteur aux androgènes (Okubo et coll., 2004). Sur des extraits cytosoliques de prostate ventrale de rat, le chlordécone présente également une très faible capacité à déplacer la liaison de l'androgène synthétique IR1881 au récepteur aux androgènes (Kelce et coll., 1995). Le chlordécone présente une activité androgénique sur des cellules PC-3 transfectées exprimant le récepteur humain aux androgènes ; le chlordécone seul n'a aucun effet, mais il inhibe partiellement l'activation générée par la liaison de la dihydrotestostérone (Schrader et Cooke, 2000). Le chlordécone présente également des propriétés de type progestagène (Das et coll., 1998 et 1999) en interagissant avec le récepteur à la progestérone (récepteur humain recombinant) (Scippo et coll., 2009) et en inhibant la liaison de la progestine R5020 (agoniste du récepteur A de la progestérone) (Vonier et coll., 1996). Finalement, comme mentionné précédemment, le chlordécone active également le « *Pregnane X*

Receptor » (PXR) (Lee et coll., 2008) ce qui pourrait avoir des conséquences indirectes sur les concentrations circulantes de certaines hormones métabolisées par les cibles géniques de ce récepteur (CYP2 et 3).

- ***Propriétés pro-angiogéniques***

Le chlordécone, *in vivo* et *in vitro*, augmente la prolifération de cellules endothéliales (Clere et coll., 2012). Cet effet est aboli en éteignant l'expression de ERα et implique la voie ERα/Nox2/O2 mitochondriale. Récemment, Alabed Alibrahim et coll. (2019) ont montré que l'exposition au chlordécone par voie orale (1,7 µg/kg pc/j pendant 8 semaines) chez des souris nude xénogreffées avec des cellules tumorales humaines de la prostate (PC3), induit une augmentation de la taille des tumeurs prostatiques. L'immunomarquage à l'aide du marqueur endothélial CD31 a révélé une augmentation de la néovascularisation tumorale. Il est à noter que la concentration plasmatique après 8 semaines d'exposition était en moyenne de 26,3 µg/l et que l'effet pro-angiogénique était fortement diminué en cas d'exposition à des dérivés déchlorés du chlordécone.

- ***Augmentation de l'expression du récepteur CXCR4 et de la protéine d'adhésion VCAM-1 (Wang et coll., 2007)***

Ces protéines interviennent dans la signalisation du microenvironnement cellulaire impliqué dans la progression tumorale et métastatique (Sun et coll., 2010 ; Schlesinger et Bendas, 2015) y compris des tumeurs prostatiques (Taichman et coll., 2002 ; Tai et coll., 2014).

- ***Effets épigénétiques transgénérationnels***

Une publication récente rapporte des effets épigénétiques transgénérationnels observés sur la prostate murine après exposition gestationnelle au chlordécone (Legoff et coll., 2021). Des souris gestantes ont été exposées par voie orale au chlordécone à une dose de 100 µg/kg pc/j, presque trois fois en dessous de la LOAEL dans cette espèce. Les auteurs ont observé une augmentation du nombre d'animaux porteurs de néoplasies intraépithéliales prostatiques chez les générations F1 et F3. Chez l'homme, ces lésions lorsqu'elles sont de haut grade, sont fortement suspectées de constituer des précurseurs du cancer de la prostate. Une analyse transcriptomique a montré une expression différentielle de 970 gènes chez la génération F1 et de 218 gènes chez génération F3, comprenant des gènes du développement (*Hoxa7, Hoxa9, Hoxb13*...) et des gènes impliqués dans la voie de synthèse des androgènes (*Cyp17a1, Cyp19a1, Srd5a1*...). Une analyse épigénomique réalisée sur des prostates et le sperme des générations F1 et F3 a identifié des changements d'intensité de certaines marques (H3K4me3, H3K27me3) à

proximité de gènes intervenant dans la différenciation des cellules souches et du développement de la prostate.

En conclusion, plusieurs mécanismes d'action du chlordécone au niveau intracellulaire sont à souligner, notamment dans un contexte de promotion ou de progression tumorale. Parmi ces mécanismes d'action, le blocage de nombreuses ATPases (dont celles impliquées dans la production d'ATP au niveau de la chaîne respiratoire) pourrait favoriser l'agressivité des tumeurs en favorisant une glycolyse anaérobie ainsi que la production d'ERO stimulant des voies de signalisation prolifératives. Il apparaît par ailleurs que les perturbations de la distribution du Ca^{2+} pourraient jouer un rôle significatif. En effet, la mitochondrie est un réservoir important de Ca^{2+} intracellulaire et il apparaît là encore que le blocage des ATPases calciques par le chlordécone pourrait perturber sa distribution intracellulaire, favorisant l'activation de la protéine kinase C. Le Ca^{2+} se concentre aussi dans le noyau, ce qui pourrait contribuer à l'activité de cette famille de kinases dans cet organite. Une des conséquences de cette activation pourrait être la stimulation de l'expression/activité de l'ornithine décarboxylase, une enzyme stabilisant l'ADN par la production de polyamines notamment au cours de sa synthèse, au moment de la division cellulaire. Outre les effets du chlordécone sur la promotion ou progression tumorale, nombre des évènements rapportés interviennent dans la communication et la jonction intercellulaires, tout comme dans la signalisation, notamment hormonale, du microenvironnement impliqué dans la progression tumorale et métastatique, y compris des tumeurs prostatiques.

Classements du chlordécone dans les substances cancérogènes

Sur la base des études existantes, plusieurs organismes se sont prononcés sur le potentiel cancérogène du chlordécone.

Le Centre international de recherche sur le cancer (Circ) a établi en 1979 qu'« il existe des preuves suffisantes pour considérer que le chlordécone est cancérogène chez la souris et le rat. En l'absence de données adéquates chez l'humain, il est raisonnable, à des fins pratiques, de considérer le chlordécone comme s'il présentait un risque cancérogène pour l'être humain »[43] (IARC, 1979). Son classement dans la catégorie 2B (peut-être cancérogène pour l'humain) est intervenu en 1987[44] sur des critères qui ne correspondent plus

43. *There is sufficient evidence that chlordecone is carcinogenic in mice and rats. In the absence of adequate data in humans, it is reasonable, for practical purposes, to regard chlordecone as if it presented a carcinogenic risk to humans.*
44. *Possibly carcinogenic to humans.*

à ceux actuellement en vigueur. Depuis, aucune actualisation n'a été faite par le Circ.

Aux États-Unis et dès 1981, le *National Toxicology Program*, qui dépend du Département de la Santé et des Services Sociaux des États-Unis (US-HHS) (deuxième rapport annuel n° PB8222980) a considéré le chlordécone, comme « pouvant être raisonnablement anticipé cancérogène pour l'humain »[45] puis l'US-EPA comme « susceptible d'être cancérogène pour l'humain »[46]. L'ATSDR (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*), qui dépend également de l'US-HHS, a récemment procédé à l'actualisation du profil toxicologique du chlordécone[47].

Le chlordécone est considéré comme agent cancérigène et classé en catégorie 2 (cancérogène possible) de la classification CMR de l'Union européenne relative aux substances préoccupantes.

Discussion

Le cancer est une maladie plurifactorielle et particulièrement complexe. Il ne fait aucun doute qu'elle résulte de la combinaison de facteurs génétiques de prédisposition et de facteurs environnementaux conduisant à la transformation maligne des cellules, sans pour autant écarter le rôle éventuel (et très débattu) de mutations aléatoires (Tomasetti et coll., 2017). Dans ces conditions, il est difficile d'attribuer une ou plusieurs causes à un cancer dans une relation univoque, le terme de causalité étant par ailleurs soumis à de multiples interprétations, y compris philosophiques et sociologiques. S'agissant des approches épidémiologiques, notamment dans le domaine du cancer, on parle de manière plus pragmatique de facteurs de risque. La validité interne et la validité externe des études leur confèrent du sens. La plausibilité biologique des facteurs de risque identifiés par les études épidémiologiques permet, lorsqu'elle est bien documentée, d'apporter des arguments en faveur d'une interprétation causale des associations.

L'Expertise collective de 2013 n'a pu signaler qu'une seule matière active pour laquelle elle a estimé qu'un lien de causalité était établi entre une exposition aux pesticides et un effet sur la santé. Il s'agit du dibromochloropropane, un fumigant nématocide employé dans des cultures tropicales, notamment banane et ananas, et la survenue d'infertilité masculine en portant atteinte, de manière irréversible, à la production de spermatozoïdes.

45. *Reasonably anticipated to be a human carcinogen.*
46. *Likely to be carcinogenic to humans.*
47. https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp66.pdf (consulté le 2 novembre 2020).

Cette même expertise, sur la base des connaissances scientifiques disponibles, n'a pas pu constater de relation de causalité entre l'exposition à un pesticide donné et la survenue d'une quelconque autre pathologie, notamment tumorale.

Dans le cas de l'étude cas-témoins Karuprostate, l'exposition au chlordécone a été proposée comme étant un facteur de risque, car elle est associée à une probabilité plus élevée de survenue d'un cancer de la prostate en Guadeloupe. Cette notion d'association, strictement statistique, n'établit pas d'office une relation causale. Pour autant, il est légitime, dans le cadre des études épidémiologiques, d'organiser les faits empiriques et de leur donner du sens. Une telle approche relève davantage du jugement que de la démonstration. C'est ainsi que Bradford Hill a proposé divers arguments pouvant servir de base à ce jugement (Hill, 1965 ; voir également l'expertise collective Inserm, « Approche méthodologique du lien avec l'environnement », 2005).

Tout en tenant compte des limites évoquées précédemment sur l'étude cas-témoins Karuprostate, quels arguments plaident en faveur d'une relation causale ?

- Les associations retrouvées sont statistiquement significatives, mais leur amplitude reste relativement modeste, de l'ordre du doublement de risque, comme cela est souvent attendu pour des expositions environnementales.
- La présence d'un gradient biologique (dose-réponse) entre l'intensité de l'exposition, quels que soient l'indicateur d'exposition utilisé ou les facteurs d'interaction explorés, confère une cohérence interne à l'étude.
- Le Circ, dans le préambule de ses monographies d'évaluation du risque cancérogène chez l'être humain, considère qu'une durée d'exposition de 20 ans est fréquemment nécessaire avant l'apparition clinique d'un cancer. Ce critère est rempli dans le cas présent, où la durée d'exposition médiane au chlordécone de la population d'étude a été estimée à 30 ans.
- L'augmentation de risque retrouvée chez les porteurs d'allèles variants de la chlordécone réductase est, bien que non statistiquement significative, cohérente avec la réduction de la capacité de métabolisation et d'élimination de la molécule entraînée par ces variants.
- Des études portant sur au moins deux espèces animales (rats et souris) ont montré que l'exposition au chlordécone peut induire des hépatocarcinomes.
- Des études relatives aux mécanismes de cancérogénèse et aux modes d'actions moléculaire et cellulaires du chlordécone soutiennent son rôle comme promoteur tumoral, mais aussi sa capacité à intervenir dans la signalisation du microenvironnement tumoral, y compris celui de la prostate.

• La reproductibilité des observations est un élément majeur. L'étude cas-témoins Karuprostate est la seule étude publiée à ce jour ayant investigué l'association éventuelle entre l'exposition au chlordécone et le risque de survenue du cancer de la prostate. Cela n'est guère surprenant car son utilisation a été restreinte à certains territoires (Porto Rico, Antilles françaises, certains pays d'Amérique centrale, du Sud-Ouest asiatique et des anciennes colonies françaises), pendant un nombre limité d'années et avant 1975 (date d'arrêt de la production du chlordécone sous la formulation Kepone®). Même aux États-Unis, où l'État de Virginie a été confronté aux conséquences de l'accident industriel de l'usine de production du chlordécone de Hopewell en 1975, entraînant l'exposition des travailleurs et la contamination environnementale des milieux aquatiques, aucune étude n'a été réalisée à ce jour concernant la survenue de pathologies tumorales. Toutefois, on peut faire l'analogie suivante : on constate que parmi la famille des insecticides organochlorés (famille à laquelle le chlordécone appartient), plusieurs matières actives ont fait l'objet d'évaluations institutionnelles[48] et ont été considérées comme cancérogènes probables ou possibles pour l'être humain (aldrine, DDT, dieldrine, hexachlorocyclohexane (mélanges d'isomères ; isomère γ/lindane), pentachlorophénol, heptachlore, mirex, toxaphène).

Conclusion

Pesticides et cancer de la prostate

L'expertise collective Inserm de 2013 avait conclu à la présomption forte d'un lien entre l'exposition aux pesticides dans des circonstances d'usage professionnel, sans distinction de familles chimiques ou de substances actives, chez les agriculteurs, les applicateurs de pesticides et les ouvriers de l'industrie de production de pesticides, et un risque accru de survenue du cancer de la prostate.

De nouveaux travaux publiés depuis 2013 confirment que les populations résidant en milieu rural ou exerçant une activité professionnelle dans le secteur agricole sont plus à risque de développer un cancer de la prostate que la population générale.

Ces travaux récents en épidémiologie confortent donc les conclusions de 2013 sans qu'aucune conclusion supplémentaire ne puisse être avancée concernant

48. Circ, NTP, US-EPA, UE (CMR).

les catégories de pesticides impliqués selon leurs cibles d'emploi (insecticides, fongicides, herbicides...) ou leurs familles chimiques d'appartenance.

S'agissant des activités ou des tâches potentiellement exposantes aux pesticides et de leur association au cancer de la prostate, les conclusions ne sont toujours pas homogènes. Les résultats divergent selon les études et cette hétérogénéité pourrait correspondre à des différences en fonction des pays et régions du monde, des moyens de protection, et des pratiques et modalités d'emploi en fonction des cultures ou des élevages considérés. Finalement, il n'est pas possible d'exclure que d'autres facteurs, par exemple des facteurs présents dans l'environnement agricole, autres que les pesticides, puissent également contribuer à expliquer l'excès de risque de cancer de la prostate régulièrement constaté en milieu rural et dans le secteur agricole.

Pour ce qui concerne les organophosphorés, les nouvelles études portant sur les substances actives renforcent le rôle, déjà suggéré lors de l'expertise collective Inserm de 2013, de l'insecticide fonofos dans la survenue du cancer de la prostate chez les agriculteurs (associations positives uniquement chez les sujets déclarant des antécédents familiaux de cancer de la prostate ainsi que chez les sujets porteurs d'une forme agressive de la maladie au diagnostic). D'autres insecticides, terbufos et malathion, ont été récemment associés chez les agriculteurs à un risque augmenté de survenue du cancer de la prostate, mais uniquement chez les sujets porteurs d'une forme agressive de la maladie au moment du diagnostic. Aucune nouvelle publication n'a concerné les autres substances actives potentiellement impliquées en 2013 dans la survenue du cancer de la prostate chez les agriculteurs ou en population générale.

Pour ce qui concerne les organochlorés, en 2013, les études sur l'exposition à l'insecticide DDT (ou le DDE, son principal métabolite) et le risque de survenue du cancer de la prostate étaient contradictoires. Une nouvelle étude cas-témoins en population générale réalisée à la Guadeloupe, portant sur les effectifs issus de Karuprostate et avec une mesure de l'exposition par le dosage de la molécule dans le sang, a montré qu'il était associé positivement au risque de survenue de cancer de la prostate. Une autre étude suggère également le rôle de l'insecticide *trans*-nonachlore en population générale. Notons finalement que de nombreuses substances actives n'ont toujours pas fait l'objet d'études épidémiologiques au regard du risque de survenue du cancer de la prostate, c'est le cas notamment des fongicides.

D'un point de vue mécanistique, la grande majorité des études ont été réalisées sur des insecticides organochlorés, la plupart retirés du marché en France mais qui sont toujours persistants dans l'environnement. Ces études

montrent que le β-HCH et le DDT/DDE présentent notamment des capacités à interagir sur la régulation hormonale de la prostate, ce qui rend biologiquement plausible les associations observées dans les études épidémiologiques en lien avec la survenue du cancer de la prostate.

Pour quelques substances actives moins persistantes (paraquat, glyphosate, cyperméthrine, 2,4-D, atrazine bénomyl, vinclozoline, prochloraz, chlorpyrifos-méthyl et les fongicides cyprodinil, fenhexamide, fludioxonil), pour lesquelles les études épidémiologiques n'ont pas montré d'association avec le cancer de la prostate ou n'ont pas fait encore l'objet d'études épidémiologiques, on dispose de données mécanistiques compatibles avec ou suggérant une implication dans le développement du cancer de la prostate.

Chlordécone et cancer de la prostate

L'expertise collective de 2013 avait estimé qu'il existait une présomption forte d'un lien entre l'exposition au chlordécone et le risque de survenue du cancer de la prostate. Cette évaluation était basée sur l'étude cas-témoins Karuprostate réalisée en Guadeloupe au cours de la période 2004 à 2007 montrant un excès de risque de cancer de la prostate avec une relation dose-réponse, mais également sur les principales études portant sur les modes d'action biologiques de la molécule. Depuis la publication de cette étude en 2010, aucune critique de la méthodologie (procédures de sélection, critères d'identification des cas et des témoins, mesure et classement des expositions, identification et contrôle des biais potentiels de confusion, traitements statistiques employés...) n'a été publiée qui remettrait en cause les associations rapportées. En toute rigueur, pour disposer d'une reproductibilité, une étude similaire supplémentaire sur d'autres populations exposées au même environnement, réalisée par un autre groupe de recherche, serait nécessaire pour conforter ces résultats. Toutefois, une nouvelle étude publiée en 2019, issue de la même population de cas présente dans l'étude cas-témoins Karuprostate et s'adressant de manière prospective à un évènement de santé autre que celui de la survenue de cancer de la prostate, a montré que l'exposition au chlordécone était associée à un excès de risque, avec une relation dose-réponse, de récidive biologique de la maladie après traitement par prostatectomie radicale.

Une analyse détaillée a été réalisée sur l'ensemble des données toxicologiques et mécanistiques existantes sur le chlordécone ainsi que ses relations avec les mécanismes de la cancérogenèse, notamment prostatique. Elle soutient le rôle du chlordécone comme promoteur tumoral et sa capacité à intervenir dans les processus qui favorisent la progression tumorale. Cela rend

biologiquement plausible les associations observées entre le chlordécone et le cancer de la prostate, ce qui est cohérent avec les résultats pour les organochlorés mentionnés ci-dessus.

En accord avec les conclusions de l'expertise collective de 2013, et à la lumière des données scientifiques existantes à ce jour, il apparaît que la relation causale entre l'exposition au chlordécone et le risque de survenue du cancer de la prostate est vraisemblable. Établir scientifiquement une relation de causalité entre l'exposition à un xénobiotique et un évènement indésirable pour la santé humaine est un exercice difficile, surtout si cet évènement se produit longtemps après le début de l'exposition. L'évaluation d'une relation de causalité ne procède pas de la démonstration mais d'un jugement et c'est la convergence des conclusions issues d'études épidémiologiques et des données toxicologiques et mécanistiques qui permet d'apprécier la vraisemblance d'une relation causale.

Addenda : Le chlordécone

Caractéristiques physico-chimiques

Le chlordécone ($C_{10}Cl_{10}O$, n° CAS : 143-50-0) est un composé organochloré de synthèse de masse molaire 490,63 g/mol (IPCS, 1984 ; Faroon et coll., 1995 ; EPA, 2009). Il possède une structure chimique en cage avec dix atomes de carbone, dix de chlore et une fonction cétone. Cette structure et l'arrangement spatial de ses atomes lui confèrent des propriétés qui détermineront en grande partie son devenir environnemental. Les principales propriétés physico-chimiques du chlordécone sont : *i*) un coefficient de partage avec le carbone organique élevé (Log Koc ~ 3,4) expliquant sa grande capacité de rétention par les sols organiques ; *ii*) un coefficient de partage octanol – eau élevé (log Kow de 5,41) se traduisant par une forte affinité pour les composés hydrophobes ; *iii*) une faible pression de vapeur ($2{,}25 \times 10^{-7}$ mmHg à 25 °C) résultant en une faible volatilité ; *iv*) une faible solubilité dans l'eau (inférieure à 3 mg/l) ; *v*) une résistance exceptionnelle à la dégradation biotique et abiotique.

Production et usages

La production et commercialisation du chlordécone sous la formulation Kepone® a débuté aux États-Unis en 1958 et il a été enregistré comme insecticide et autorisé pour lutter principalement contre les ravageurs des productions agricoles non alimentaires (taupin du tabac), des pelouses, arbustes d'ornement et la protection des bâtiments (contre les fourmis rouges par exemple). Le seul usage enregistré sur cultures alimentaires concernait la culture de la banane pour lutter contre le charançon à Porto Rico. Sa production a été définitivement interrompue en 1975, suite aux effets sanitaires constatés chez les employés fabriquant la molécule à l'usine de Hopewell (Virginie), et sa commercialisation en 1976. Aux Antilles françaises, le Kepone® (formulation contenant 5 % de chlordécone) a été employé pour lutter contre le charançon du bananier de 1973 à 1976 puis jusqu'à la fin de la décennie par épuisement des stocks. L'arrêt de la production du Kepone® aux États-Unis a conduit à l'arrêt définitif de l'utilisation du chlordécone dans le monde, à quelques exceptions près. En effet, en 1981, le chlordécone est réapparu dans le circuit commercial sous la formulation Curlone® contenant 5 % de chlordécone, à l'initiative d'une société française. Employé principalement aux Antilles françaises (des usages ont été rapportés au Cameroun et en Côte d'Ivoire : Gimou et coll., 2008 ; Le Déaut et Procaccia, 2009), toujours pour lutter contre le charançon du bananier, son utilisation s'est

poursuivie jusqu'en 1993. On estime à près de 6 000 tonnes de formulation commerciale (à 300 tonnes de substance active) la quantité employée et épandue aux Antilles (Beaugendre et coll., 2005).

Toxicité non cancérigène

La toxicité du chlordécone chez l'être humain a été mise en évidence pour la première fois en 1975 à la suite d'un épisode d'empoisonnement des employés de l'usine de fabrication du Kepone® à Hopewell aux États-Unis (Cannon et coll., 1978). Dans des circonstances déplorables d'hygiène industrielle, une trentaine d'employés du secteur de la production ont été exposés à la molécule par voie orale et respiratoire (ingestion et aspiration de poussières de chlordécone) mais aussi par contact cutané. Majoritairement de sexe masculin, les employés ont montré des signes de toxicité prolongée impliquant le système nerveux (principalement : tremblements intentionnels appendiculaires, ataxie, dysfonctionnements oculomoteurs, troubles de l'élocution, irritabilité, troubles de l'humeur et perte de la mémoire récente), une hépatomégalie et des atteintes testiculaires (faible nombre de spermatozoïdes et pourcentage réduit de spermatozoïdes mobiles (Cannon et coll., 1978 ; Cohn et coll., 1978 ; Taylor et coll., 1978 ; Guzelian et coll., 1980 ; Taylor, 1982 ; Taylor, 1985). Ces symptômes et signes cliniques ont été regroupés sous le terme de syndrome du *Kepone Shake*. Ces troubles ont été observés chez les sujets présentant des concentrations de chlordécone dans le sang supérieures ou égales à 1 mg/ml, l'intensité des troubles étant proportionnel à leur degré de contamination. Après arrêt de l'exposition, la plupart des symptômes et signes cliniques ont régressé au fil des années et de manière parallèle avec la diminution des concentrations de la molécule dans le sang. Ces personnes ont fait l'objet d'un suivi sur une dizaine d'années et aucune pathologie tumorale n'a été observée (Cohn et coll., 1978 ; Taylor, 1982 ; Guzelian et coll., 1992).

Aucune étude n'a été réalisée ni aucune information rapportée concernant le risque de survenue de pathologies tumorales parmi les employés de l'usine de fabrication du chlordécone de Hopewell ou parmi la population générale de Hopewell ou de la région entourant cette ville.

De nombreuses études expérimentales réalisées chez des espèces aviaires et des mammifères ont confirmé que l'exposition au chlordécone par voie orale et à des doses élevées induit des tremblements des membres, une hépatomégalie fonctionnelle et une oligospermie (Larson et coll., 1979 ; Faroon et coll., 1995), dans un cadre syndromique similaire à celui observé chez l'être humain (Guzelian, 1982). L'exposition gestationnelle et post-natale précoce

au chlordécone chez des rongeurs porte atteinte au bon développement embryonnaire ainsi qu'au développement neurologique, comportemental et moteur, après la naissance (Mactutus et coll., 1982 et 1984 ; Mactutus et Tilson, 1984 et 1985).

Toxicocinétique et métabolisme

Chez les travailleurs exposés professionnellement à Hopewell, la demi-vie plasmatique du chlordécone dans le sang, après arrêt complet de l'exposition, a été estimée en moyenne à 165 jours avec une certaine variabilité selon les individus (Adir et coll., 1978 ; Cohn et coll., 1978). La demi-vie dans le tissu adipeux a été estimée en moyenne à 120 jours (Cohn et coll., 1978). L'analyse détaillée des tissus et fluides biologiques humains a montré que la plus forte concentration de chlordécone se situait dans le foie. Les ratios des concentrations en chlordécone de divers tissus par rapport au sang étaient pour le foie, les graisses, les muscles et la bile respectivement de 15, 6,7, 2,9 et 2,5 (Cohn et coll., 1978). Ces coefficients de partage, en particulier celui concernant les graisses, sont très inférieurs à ceux attendus pour une substance apparemment très lipophile, compte tenu de son Kow élevé. Cela s'explique par le fait que le chlordécone se lie spécifiquement à certaines protéines hépatiques, mais aussi au fait que son transport plasmatique est assuré préférentiellement par l'albumine et par les lipoprotéines de haute densité (HDL), contrairement aux autres organochlorés qui se lient préférentiellement aux lipoprotéines VLDL et LDL (Skalsky et coll., 1979 ; Soine et coll., 1982 et 1984). Le chlordécone est excrété dans la bile sous la forme d'un métabolite (chlordécone alcool) et conjugué à un glucuronide (Cohn et coll., 1978). La réduction (transformation de la fonction cétone en alcool) est catalysée par une enzyme hépatique cytosolique de type aldo-keto réductase et dénommée chlordécone réductase (Molowa et coll., 1986a et b)[49]. Néanmoins, à peine 5 % du chlordécone présent dans la bile se retrouve dans les selles, la molécule subissant à nouveau un cycle entéro-hépatique après oxydation et dé-glucuroconjugaison dans la lumière intestinale (Blanke et coll., 1978 ; Fariss et coll., 1980).

Ce profil toxicocinétique et métabolique a été retrouvé de manière similaire chez les mammifères étudiés (rongeurs, porcins, bovins, caprins...), avec parfois des différences concernant le temps de demi-vie plasmatique (souvent plus court que chez l'être humain) (Egle et coll., 1978 ; Houston et coll.,

49. La chlordécone réductase (AKR1C4) est une 3-α-hydrostéroïde déshydrogénase de type 1 qui catalyse la transformation de la dihydrotestostérone en 5-α-androstane-3-α,17-β-diol (3-α-diol).

1981 ; Soine et coll., 1983). La chlordécone réductase a été mise en évidence chez le cochon, la gerbille et le lapin (Soine et coll., 1983 ; Molowa et coll., 1986b), mais pas chez le rat, la souris, le cochon d'inde ou le hamster. Chez la gerbille, l'exposition au chlordécone induit l'expression et la synthèse de la chlordécone réductase. Le foie est dans tous les cas l'organe où s'accumule préférentiellement le chlordécone. Chez ces espèces, le chlordécone traverse également la barrière placentaire et est présent dans le lait (Kavlock et coll., 1980).

Mécanismes de toxicité générale

Les mécanismes biologiques conduisant aux manifestations toxiques du chlordécone décrits ci-dessus sont multiples et encore mal compris pour certains. Le chlordécone présente une capacité indéniable à inhiber de nombreuses ATPases, cérébrales et cardiaques, tout comme celle d'interagir avec de multiples neurotransmetteurs (noradrénaline, dopamine, GABA...), ce qui pourrait expliquer en partie la survenue des troubles neurologiques (revue dans Desaiah, 1982 ; Faroon et coll., 1995). De même, ses propriétés hormonales de type œstrogénique et progestagénique, clairement établies dès la fin des années 1970 *in vivo* et *in vitro* (Palmiter et coll., 1978 ; Bulger et coll., 1979 ; Hammond et coll., 1979 ; Eroschenko et coll., 1981 ; Huang et coll., 1986 ; Williams et coll., 1989 ; Brown et coll., 1991 ; Vonier et coll., 1996 ; Bolger et coll., 1998 ; Kuiper et coll., 1998 ; Das et coll., 1997, 1998 et 1999 ; Gellert, 2004 ; Lemaire et coll., 2006a et b ; Ray et coll., 2007), pourraient être impliquées dans la survenue d'atteintes de la reproduction et du développement. De ce fait, depuis la diffusion de l'expression « perturbateur endocrinien », le chlordécone a été logiquement inclus dans cette catégorie de substances.

Devenir environnemental

L'emploi du chlordécone aux Antilles, de 1973 à 1993 sous la formulation Kepone® puis Curlone®, par application aux soles bananières a entraîné une pollution persistante des sols. La première observation de la persistance environnementale du chlordécone a été rapportée par Snegaroff (1977). Sa présence a été constatée deux ans après son application sur des soles bananières reconverties à d'autres activités agricoles (aubergine), ainsi que dans les eaux de rivières à des concentrations pouvant dépasser 200 µg/l. D'autres travaux de l'Inra dresseront rapidement un tableau détaillé de la contamination de la faune sauvage au cours de la période 1979-1980 (Cavelier, 1980). Des

mammifères, oiseaux, poissons, crustacés et mollusques (praires, huîtres de mangrove) furent prélevés à différents points de la Guadeloupe. Les résultats ont montré, pour toutes les espèces animales étudiées, une contamination particulièrement élevée en chlordécone (atteignant jusqu'à plusieurs dizaines de mg par kg de poids corporel). Cependant, il faudra attendre la fin des années 1990 pour que la pollution des milieux naturels antillais (Guadeloupe et Martinique) soit publiquement communiquée, suite à la mise en évidence du chlordécone dans les eaux de consommation en 1999, puis successivement dans les sols, les eaux de surface et profondes, le littoral marin et dans de nombreuses denrées alimentaires, végétales et animales, terrestres et aquatiques (d'eau douce ou de mer) (Bonan et Prime, 2001). On estime qu'au moins un tiers des surfaces agricoles (20 000 hectares) et près de la moitié des ressources en eau douce et du littoral marin sont pollués par le chlordécone. Les surfaces agricoles polluées correspondent pour l'essentiel à des soles bananières existantes sur la période 1973-1993. Récemment des sols où aucune culture bananière n'a été enregistrée dans le passé ont été retrouvés contaminés, suite à des usages détournés sur cultures maraîchères et d'agrumes pour lutter contre les charançons qui les affectent[50].

Exposition des populations

Confirmant la forte capacité du chlordécone à se bioaccumuler tout le long de la chaîne trophique, la contamination des populations résidentes aux Antilles (hommes et femmes adultes, femmes enceintes, nourrissons) a été documentée à partir de 1999. Le dosage du chlordécone a permis de détecter la molécule dans divers tissus (sang, graisses, lait). Dans le sang, les taux de détection pouvaient atteindre 90 % avec des concentrations jusqu'à plusieurs dizaines de µg/l (maximum observé de 100 µg/l) (Multigner et coll., 2006 ; Multigner et Kadhel, 2008 ; Guldner et coll., 2010 ; Multigner et coll., 2010 ; Guldner et coll., 2011 ; Dallaire et coll., 2012 ; Boucher et coll., 2013 ; Kadhel et coll., 2014 ; Hervé et coll., 2016 ; Dereumeaux et Saoudi, 2018). L'exposition a été principalement reliée à la consommation d'aliments d'origine locale eux-mêmes contaminés (principalement légumes racines, viandes, poissons) (Multigner et Kadhel, 2008 ; Guldner et coll., 2010 ; Dereumeaux et Saoudi, 2018).

Le chlordécone a été autorisé aux Antilles pour lutter contre le charançon du bananier. Au cours de la période d'emploi, de 1973 à 1993, il est

50. Une cartographie est accessible depuis la page internet suivante : https://www.martinique.gouv.fr/Politiques-publiques/Environnement-sante-publique/Chlordecone/ (consulté le 30 mars 2020).

hautement vraisemblable que les travailleurs du secteur bananier ont été exposés à la molécule, du fait de l'épandage manuel, à des niveaux plus élevés que le reste de la population (Gentil et coll., 2018). Cependant, on ne dispose d'aucune information directe permettant d'estimer l'intensité d'exposition de ces travailleurs à cette époque. À ce jour, la présence du syndrome du Kepone (*Kepone Shake*) aux Antilles n'a jamais été observée ou rapportée. Sans exclure totalement la possibilité de sa présence aux Antilles, cela suggère que le seuil à partir duquel les symptômes et signes de ce syndrome se manifestent (1 mg de chlordécone/l de sang) n'a peut-être que rarement ou jamais été atteint. Une étude sur la période 1999 à 2001, réalisée chez des travailleurs de même âge et résidant dans les mêmes communes de Basse-Terre (principal secteur géographique bananier en Guadeloupe), a montré que les concentrations plasmatiques en chlordécone étaient plus élevées chez les salariés du secteur agricole bananier (médiane : 6,5 µg/l, percentile 75 : 17,1 µg/l, maximum : 100 µg/l) comparé à des salariés du secteur non-agricole (médiane : 5,5 µg/l, percentile 75 : 9,0 µg/l, maximum : 24,3 µg/l) (Multigner et coll., 2006 et 2008). Parmi les travailleurs du secteur bananier, les hommes qui avaient exercé leur métier pendant plus de 14 années (médiane de la durée d'emploi) présentaient également les concentrations les plus élevées (médiane : 6,5 µg/l, percentile 75 : 22,8 µg/l, maximum : 104 µg/l) par rapport à ceux ayant exercé pendant moins de 14 années (médiane : 5,9 µg/l, percentile 75 : 12,3 µg/l, maximum : 104 µg/l) (Multigner et Kadhel, 2008). Une étude, réalisée sur la période 2004 à 2007 en population générale, sur des hommes âgés entre 45 et 80 ans, a montré que les hommes exerçant ou ayant exercé une activité professionnelle dans le secteur bananier présentaient des concentrations plus élevées (médiane : 1,0 µg/l, percentile 75 : 2,3 µg/l, maximum : 49 µg/l) en comparaison des hommes ne travaillant pas et n'ayant jamais travaillé dans ce secteur (médiane : 0,5 µg/l, percentile 75 : 1,3 µg/l, maximum : 44 µg/l) (Multigner et coll., 2010). Bien que les travailleurs du secteur bananier sur les deux périodes citées aient présenté des niveaux d'exposition interne plus élevés que ceux n'ayant pas travaillé dans ce secteur, la différence reste modeste. Il faut bien garder à l'esprit que, tenant compte de la demi-vie plasmatique du chlordécone (moyenne de 165 jours), il n'est pas impossible que la fraction d'exposition interne liée à une exposition professionnelle ait diminué depuis 1993 et que les niveaux d'exposition rejoignent progressivement ceux du reste de la population, qui a été continuellement exposée *via* l'alimentation depuis le milieu des années 1970. On ne peut exclure, vu l'utilisation détournée du chlordécone vers d'autres cultures, que d'autres populations que celles du secteur bananier puissent avoir également été exposées professionnellement.

Risques sanitaires

La pollution environnementale des Antilles au chlordécone, ainsi que la contamination de la chaîne alimentaire, constituent une situation assez unique de par son étendue sur un territoire couvrant 2 756 km^2 (Guadeloupe et Martinique) et de par la population concernée, estimée à 800 000 habitants. Compte tenu de la dangerosité de la molécule et de la contamination avérée de la population, de nombreuses questions portant sur les risques sanitaires se posent. Cependant, on ignorait il y a encore peu de temps les conséquences éventuelles sur la santé d'une exposition au chlordécone à des doses dites environnementales, en particulier sur des périodes sensibles de la vie (grossesse, développement des jeunes enfants) ou à long terme. Pour faire face à ces incertitudes, des études épidémiologiques à visée étiologique ont été mises en place aux Antilles. Certaines d'entre elles ont été finalisées et leurs conclusions publiées, d'autres sont actuellement en cours[51].

Références

- Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

Adeloye D, David RA, Aderemi AV, *et al.* An estimate of the incidence of prostate cancer in Africa: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2016 ; 11 : e0153496.

Adir J, Caplan YH, Thompson BC. Kepone serum half-life in humans. *Life Sci* 1978 ; 22 : 699-702.

Adolfsson J. Commentary: on the incidence of histological prostate cancer and the probable diagnosis of cases with tumours too small to produce symptoms or to attract attention on physical examination--the findings of Dr Arnold Rice Rich. *Int J Epidemiol* 2007 ; 36 : 285-7.

Adorini L, Penna G, Amuchastegui S, *et al.* Inhibition of prostate growth and inflammation by the vitamin D receptor agonist BXL-628 (elocalcitol). *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007 ; 103 : 689-93.

Alabed Alibrahim E, Legeay S, Billat P-A, *et al.* In vivo comparison of the proangiogenic properties of chlordecone and three of its dechlorinated derivatives formed by in situ chemical reduction. *Environ Sci Pollut Res Int* 2020 ; 27 : 40953-62.

Alavanja MCR, Samanic C, Dosemeci M, *et al.* Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort. *Am J Epidemiol* 2003 ; 157 : 800-14.

51. https://www.irset.org/etudes-destinees-identifier-les-dangers-et-risques-sanitaires-associes-lexposition-au-chlordecone (consulté le 30 mars 2020).

Andreotti G, Koutros S, Berndt SI, *et al.* The interaction between pesticide use and genetic variants involved in lipid metabolism on prostate cancer risk. *J Cancer Epidemiol* 2012 ; 2012 : 358076.

Andreotti G, Hoppin JA, Hou L, *et al.* Pesticide use and relative leukocyte telomere length in the Agricultural Health Study. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0133382.

Andreotti G, Koutros S, Hofmann JN, *et al.* Glyphosate use and cancer incidence in the Agricultural Health Study. *J Natl Cancer Inst* 2018 ; 110 : 509-16.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for mirex and chlordécone. US Department of health and human services, 1995 ; 362 p.

Baldi I, Carles C, Blanc-Lapierre A, *et al.* A French crop-exposure matrix for use in epidemiological studies on pesticides: PESTIMAT. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2017 ; 27 : 56-63.

Bale SS. Cytological effects of Kepone on Chinese hamster cells. *J Hered* 1983 ; 74 : 123-4.

Banerjee S, Banerjee PP, Brown TR. Castration-induced apoptotic cell death in the Brown Norway rat prostate decreases as a function of age. *Endocrinology* 2000 ; 141 : 821-32.

Barry K, Koutros S, Andreotti G, *et al.* Genetic variation in base excision repair pathways genes, pesticide exposure and prostate cancer risk. *Environ Health Perspect* 2011 ; 119 : 1726-32.

Barry KH, Koutros S, Andreotti G, *et al.* Genetic variation in nucleotide excision repair pathway genes, pesticide exposure and prostate cancer risk. *Carcinogenesis* 2012 ; 33 : 331-7.

Beaugendre J, Edmond-Mariette P, Le Guen J, *et al. Rapport d'information par la commission des affaires économiques, de l'environnement et du territoire sur l'utilisation du chlordécone et des autres pesticides dans l'agriculture martiniquaise et guadeloupéenne*. Paris : Assemblée Nationale, 2005.

Bell KJL, Del Mar C, Wright G, *et al.* Prevalence of incidental prostate cancer: A systematic review of autopsy studies. *Int J Cancer* 2015 ; 137 : 1749-57.

Benachour N, Moslemi S, Sipahutar H, *et al.* Cytotoxic effects and aromatase inhibition by xenobiotic endocrine disrupters alone and in combination. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007 ; 222 : 129-40.

Ben-Shlomo Y, Evans S, Ibrahim F, *et al.* The risk of prostate cancer amongst black men in the United Kingdom: the PROCESS cohort study. *Eur Urol* 2008 ; 53 : 99-105.

Berman DM, Epstein JI. When is prostate cancer really cancer? *Urol Clin North Am* 2014 ; 41 : 339-46.

Berto MD, Bica CG, Sá GP de, *et al.* The effect of superoxide anion and hydrogen peroxide imbalance on prostate cancer: an integrative in vivo and in vitro analysis. *Med Oncol* 2015 ; 32 : 251.

Blanke RV, Fariss MW, Guzelian PS, *et al*. Identification of a reduced form of chlordecone (Kepone) in human stool. *Bull Environ Contam Toxicol* 1978 ; 20 : 782-85.

Bolger R, Wiese TE, Ervin K, *et al*. Rapid screening of environmental chemicals for estrogen receptor binding capacity. *Environ Health Perspect* 1998 ; 106 : 551-57.

Bonan H, Prime J-L. *Rapport sur la présence de pesticides dans les eaux de consommation humaine en Guadeloupe*. Paris : Ministère de l'emploi et de la solidarité, Ministère de l'aménagement, du territoire et de l'environnement, 2001 : 86 p.

Bonkhoff H, Berges R. The evolving role of oestrogens and their receptors in the development and progression of prostate cancer. *Eur Urol* 2009 ; 55 : 533-42.

Bonkhoff H. Estrogen receptor signaling in prostate cancer: Implications for carcinogenesis and tumor progression. *Prostate* 2018 ; 78 : 2-10.

Bonner MR, Lee WJ, Sandler DP, *et al*. Occupational exposure to carbofuran and the incidence of cancer in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 285-9.

Bosland MC. The role of estrogens in prostate carcinogenesis: a rationale for chemoprevention. *Rev Urol* 2005 ; 7 : S4-S10.

Boucher O, Simard M-N, Muckle G, *et al*. Exposure to an organochlorine pesticide (chlordecone) and development of 18-month-old infants. *Neurotoxicology* 2013 ; 35 : 162-68.

Boutros PC, Fraser M, Harding NJ, *et al*. Spatial genomic heterogeneity within localized, multifocal prostate cancer. *Nat Genet* 2015 ; 47 : 736-45.

Brown HE, Salamanca S, Stewart G, *et al*. Chlordecone (Kepone) on the night of proestrus inhibits female sexual behavior in CDF-344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991 ; 110 : 97-106.

Brureau L, Emeville E, Multigner L, *et al*. Predictors of biochemical recurrence after radical prostatectomy in an Afro-Caribbean population in Guadeloupe (French West Indies). *Prog Urol* 2018 ; 28 : 442-9.

Brureau L, Multigner L, Wallois A, *et al*. Cancer de la prostate en Guadeloupe : incidence, mortalité, caractéristiques cliniques et anatomopathologiques. *Bull Cancer* 2009 ; 96 : 165-70.

Bulger WH, Muccitelli RM, Kupfer D. Studies on the estrogenic activity of chlordecone (Kepone) in the rat: effects on uterine estrogen receptor. *Mol Pharmacol* 1979 ; 15 : 515-24.

Caldwell V, Loch-Caruso R. Chlordecone rapidly and reversibly inhibits gapjunctional communication in human embryonic palatal mesenchyme cells. *In Vitro Toxicol*. 1992 ; 5(2) : 113-22.

Cannon SB, Veazey JM, Jackson RS, *et al*. Epidemic Kepone poisoning in chemical workers. *Am J Epidemiol* 1978 ; 107 : 529-37.

Capurso C, Vendemiale G. The mediterranean diet reduces the risk and mortality of the prostate cancer: a narrative review. *Front Nutr* 2017 ; 4 : 38.

Carmines EL, Carchman RA, Borzelleca JF. Kepone: cellular sites of action. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979 ; 49 : 543-50.

Cavelier N. *Contamination of fauna by the organochlorinated pesticides*, In Kermarrec A (Ed): Current level of the biological chains in Guadeloupe: Pesticides and heavy metals 1979-1980. INRA, French Ministry of the Environment [in French] 1980 : 113-28.

Center MM, Jemal A, Lortet-Tieulent J, *et al*. International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *Eur Urol* 2012 ; 61 : 1079-92.

Chan JM, Gann PH, Giovannucci EL. Role of diet in prostate cancer development and progression. *J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 8152-60.

Chen TC, Holick MF. Vitamin D and prostate cancer prevention and treatment. *Trends Endocrinol Metab* 2003 ; 14 : 423-30.

Chokkalingam AP, Stanczyk FZ, Reichardt JKV, *et al*. Molecular epidemiology of prostate cancer: hormone-related genetic loci. *Front Biosci* 2007 ; 12 : 3436-60.

Christensen CH, Platz EA, Andreotti G, *et al*. Coumaphos exposure and incident cancer among male participants in the Agricultural Health Study (AHS). *Environ Health Perspect* 2010 ; 118 : 92-6.

Clere N, Lauret E, Malthiery Y, *et al*. Estrogen receptor alpha as a key target of organochlorines to promote angiogenesis. *Angiogenesis* 2012 ; 15 : 745-60.

Cohn WJ, Boylan JJ, Blanke RV, *et al*. Treatment of chlordecone (Kepone) toxicity with cholestyramine. Results of a controlled clinical trial. *N Engl J Med* 1978 ; 298 : 243-8.

Conti DV, Wang K, Sheng X, *et al*. Two novel susceptibility loci for prostate cancer in men of African ancestry. *J Natl Cancer Inst* 2017 ; 109 : djx084.

Cunha GR, Donjacour AA, Sugimura Y. Stromal-epithelial interactions and heterogeneity of proliferative activity within the prostate. *Biochem Cell Biol* 1986 ; 64 : 608-14.

Curtis LR. Chlordecone is a potent in vitro inhibitor of oligomycin-insensitive Mg2+ -ATPase of rat bile canaliculi-enriched fraction. *J Biochem Toxicol* 1988 ; 3 : 321-8.

Curtis LR, Mehendale HM. Hepatobiliary dysfunction and inhibition of adenosine triphosphatase activity in bile canaliculi-enriched fractions following in vivo mirex, photomirex, and chlordecone exposures. *Toxicol Appl Pharmacol* 1981 ; 61 : 429-40.

Cussenot O, Cancel-Tassin G. Facteurs de risque génétiques pour le cancer de la prostate. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 562-8.

Cussenot O, Azzouzi AR, Nicolaiew N, *et al*. Combination of polymorphisms from genes related to estrogen metabolism and risk of prostate cancers: the hidden face of estrogens. *J Clin Oncol* 2007 ; 25 : 3596-602.

Dallaire R, Muckle G, Rouget F, *et al*. Cognitive, visual, and motor development of 7-month-old Guadeloupean infants exposed to chlordecone. *Environ Res* 2012 ; 118 : 79-85.

Das SK, Taylor JA, Korach KS, *et al*. Estrogenic responses in estrogen receptor-alpha deficient mice reveal a distinct estrogen signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997 ; 94 : 12786-91.

Das SK, Tan J, Johnson DC, *et al*. Differential spatiotemporal regulation of lactoferrin and progesterone receptor genes in the mouse uterus by primary estrogen, catechol estrogen, and xenoestrogen. *Endocrinology* 1998 ; 139 : 2905-15.

Das S, Thomas P. Pesticides interfere with the nongenomic action of a progestogen on meiotic maturation by binding to its plasma membrane receptor on fish oocytes. *Endocrinology* 1999 ; 140 : 1953-6.

De Marzo AM, Knudsen B, Chan-Tack K, *et al*. E-cadherin expression as a marker of tumor aggressiveness in routinely processed radical prostatectomy specimens. *Urology* 1999 ; 53 : 707-13.

De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S, *et al*. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 2007 ; 7 : 256-69.

De Roos AJ, Blair A, Rusiecki JA, *et al*. Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 49-54.

Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, *et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim*. Santé publique France, Francim, Hospices Civils de Lyon, Inca. 2019.

Deloumeaux J, Bhakkan-Mambir B, Peruvien J, *et al. Estimations régionales et départementales d'incidence et de mortalité par cancers en France, 2007-2016. Guadeloupe*. Santé publique France. 2019 : 106 p.

Dereumeaux C, Saoudi A, Goria S, *et al*. Urinary levels of pyrethroid pesticides and determinants in pregnant French women from the Elfe cohort. *Environ Int* 2018 ; 119 : 89-99.

Desaiah D. Comparative effects of chlordecone and mirex on rat cardiac ATPases and binding of 3H-catecholamines. *J Environ Pathol Toxicol* 1980 ; 4 : 237-48.

Desaiah D. Biochemical mechanisms of chlordecone neurotoxicity: a review. *Neurotoxicology* 1982 ; 3 : 103-10.

Desaiah D, Ho IK, Mehendale HM. Inhibition of mitochondrial Mg2+ ATPase activity in isolated perfused rat liver by Kepone. *Biochem Pharmacol* 1977 ; 26 : 1155-9.

Desaiah D, Gilliland T, Ho IK, *et al*. Inhibition of mouse brain synaptosomal ATPases and ouabain binding by chlordecone. *Toxicol Lett* 1980 ; 6 : 275-85.

Di Donato M, Cernera G, Giovannelli P, *et al*. Recent advances on bisphenol-A and endocrine disruptor effects on human prostate cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2017 ; 457 : 35-42.

Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon J-P, Giudice LC, *et al*. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev* 2009 ; 30 : 293-342.

Dieye M, Banydeen R, Macni J, *et al*. Geographic variations and temporal trends in prostate cancer in Martinique over a 25-year period. *BMC Res Notes* 2014 ; 7 : 262.

Egle JL, Fernandez JB, Guzelian PS, *et al*. Distribution and excretion of chlordecone (Kepone) in the rat. *Drug Metab Dispos* 1978 ; 6 : 91-5.

Ellem SJ, Risbridger GP. The dual, opposing roles of estrogen in the prostate. *Ann N Y Acad Sci* 2009 ; 1155 : 174-86.

Ellem SJ, Schmitt JF, Pedersen JS, *et al*. Local aromatase expression in human prostate is altered in malignancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2004 ; 89 : 2434-41.

Ellem SJ, Wang H, Poutanen M, *et al*. Increased endogenous estrogen synthesis leads to the sequential induction of prostatic inflammation (Prostatitis) and prostatic pre-malignancy. *Am J Pathol* 2009 ; 175 : 1187-99.

Emeville E, Giton F, Giusti A, *et al*. Persistent organochlorine pollutants with endocrine activity and blood steroid hormone levels in middle-aged men. *PLoS One* 2013 ; 8 : e66460.

Emeville E, Giusti A, Coumoul X, *et al*. Associations of plasma concentrations of dichlorodiphenyldichloroethylene and polychlorinated biphenyls with prostate cancer: a case-control study in Guadeloupe (French West Indies). *Environ Health Perspect* 2015 ; 123 : 317-23.

End DW, Carchman RA, Ameen R, *et al*. Inhibition of rat brain mitochondrial calcium transport by chlordecone. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979 ; 51 : 189-96.

Enmark E, Pelto-Huikko M, Grandien K, *et al*. Human estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 ; 82 : 4258-65.

Eroschenko VP. Estrogenic activity of the insecticide chlordecone in the reproductive tract of birds and mammals. *J Toxicol Environ Health A* 1981 ; 8 : 731-42.

Fan W, Yanase T, Morinaga H, *et al*. Atrazine-induced aromatase expression is SF-1 dependent: implications for endocrine disruption in wildlife and reproductive cancers in humans. *Environ Health Perspect* 2007 ; 115 : 720-7.

Fariss MW, Blanke RV, Saady JJ, *et al*. Demonstration of major metabolic pathways for chlordecone (Kepone) in humans. *Drug Metab Dispos* 1980 ; 8 : 434-8.

Faroon O, Kueberuwa S, Smith L, *et al*. ATSDR evaluation of health effects of chemicals. II. Mirex and chlordecone: health effects, toxicokinetics, human exposure, and environmental fate. *Toxicol Ind Health* 1995 ; 11 : 1-203.

Figiel S, Pinault M, Domingo I, *et al*. Fatty acid profile in peri-prostatic adipose tissue and prostate cancer aggressiveness in African-Caribbean and Caucasian patients. *Eur J Cancer* 2018 ; 91 : 107-15.

Figiel S, Vasseur C, Bruyere F, *et al*. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition markers in prostate cancer. *Hum Pathol* 2017 ; 61 : 26-32.

Finley DS, Calvert VS, Inokuchi J, *et al*. Periprostatic adipose tissue as a modulator of prostate cancer aggressiveness. *J Urol* 2009 ; 182 : 1621-7.

Folmar LC. In vitro inhibition of rat brain ATPase pNPPase, and ATP-32Pi exchange by chlorinated-diphenyl ethanes and cyclodiene insecticides. *Bull Environ Contam Toxicol* 1978 ; 19 : 481-8.

Forman D, Bray F, Brewster DH, Gombe Mbalawa C, Kohler B, Piñeros M, *et al*. *CI5: Cancer incidence in five continents*. Lyon : International Agency for Research on Cancer, 2013.

Galloway SM, Armstrong MJ, Reuben C, *et al*. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells: evaluations of 108 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1987 ; 10 Suppl 10 : 1-175.

Gao S, Lee P, Wang H, *et al*. The androgen receptor directly targets the cellular Fas/FasL-associated death domain protein-like inhibitory protein gene to promote the androgen-independent growth of prostate cancer cells. *Mol Endocrinol* 2005 ; 19 : 1792-802.

Garg R, Blando JM, Perez CJ, *et al*. Protein kinase C epsilon cooperates with PTEN loss for prostate tumorigenesis through the CXCL13-CXCR5 pathway. *Cell Rep* 2017 ; 19 : 375-88.

Gellert RJ. Kepone, mirex, dieldrin, and aldrin: estrogenic activity and the induction of persistent vaginal estrus and anovulation in rats following neonatal treatment. *Environ Res* 1978 ; 16 : 131-38.

Gentil C, Spinosi J, Cahour L, *et al*. *Produits phytopharmaceutiques utilisés par les travailleurs de la banane aux Antilles françaises : évaluation des expositions professionnelles et étude des effets sanitaires associés : Projet Matphyto Dom*. Saint-Maurice : Santé publique France, 2018.

Gerlinger M, Swanton C. How Darwinian models inform therapeutic failure initiated by clonal heterogeneity in cancer medicine. *Br J Cancer* 2010 ; 103 : 1139-43.

Gimou M-M, Charrondiere UR, Leblanc J-C, *et al*. Dietary exposure to pesticide residues in Yaoundé : the Cameroonian total diet study. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2008 ; 25 : 458-71.

Gooren LJG, Toorians AWFT. Significance of oestrogens in male (patho)physiology. *Ann Endocrinol (Paris)* 2003 ; 64 : 126-35.

Grabowska MM, DeGraff DJ, Yu X, *et al*. Mouse models of prostate cancer: picking the best model for the question. *Cancer Metastasis Rev* 2014 ; 33 : 377-97.

Grimaldi M, Boulahtouf A, Delfosse V, *et al*. Reporter cell lines for the characterization of the interactions between human nuclear receptors and endocrine disruptors. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2015 ; 6 : 62.

Guldner L, Multigner L, Héraud F, *et al*. Pesticide exposure of pregnant women in Guadeloupe: ability of a food frequency questionnaire to estimate blood concentration of chlordecone. *Environ Res* 2010 ; 110 : 146-51.

Guldner L, Seurin S, Heraud F, *et al*. Exposition de la population antillaise au chlordécone. *Bull Epidemiol Hebd* 2011 ; 3-4-5 : 25-8.

Guzelian PS. Comparative toxicology of chlordecone (Kepone) in humans and experimental animals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1982 ; 22 : 89-113.

Guzelian PS. The clinical toxicology of chlordecone as an example of toxicological risk assessment for man. *Toxicol Lett* 1992 ; 64-65 Spec No : 589-96.

Guzelian PS, Vranian G, Boylan JJ, *et al*. Liver structure and function in patients poisoned with chlordecone (Kepone). *Gastroenterology* 1980 ; 78 : 206-13.

Haaland GS, Falk RS, Straume O, *et al*. Association of warfarin use with lower overall cancer incidence among patients older than 50 years. *JAMA Intern Med* 2017 ; 177 : 1774-80.

Hammond B, Katzenellenbogen BS, Krauthammer N, *et al*. Estrogenic activity of the insecticide chlordecone (Kepone) and interaction with uterine estrogen receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979 ; 76 : 6641-5.

Härkönen PL, Mäkelä SI. Role of estrogens in development of prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004 ; 92 : 297-305.

Heaphy CM, Gaonkar G, Peskoe SB, *et al*. Prostate stromal cell telomere shortening is associated with risk of prostate cancer in the placebo arm of the Prostate Cancer Prevention Trial. *Prostate* 2015 ; 75 : 1160-6.

Hensley PJ, Kyprianou N. Modeling prostate cancer in mice: limitations and opportunities. *J Androl* 2012 ; 33 : 133-44.

Herve D, Costet N, Kadhel P, *et al*. Prenatal exposure to chlordecone, gestational weight gain, and birth weight in a Guadeloupean birth cohort. *Environ Res* 2016 ; 151 : 436-44.

Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med* 1965 ; 58 : 295-300.

Hoskins B, Ho IK. Chlordecone-induced alterations in content and subcellular distribution of calcium in mouse brain. *J Toxicol Environ Health A* 1982 ; 9 : 535-44.

Hou L, Andreotti G, Baccarelli AA, *et al*. Lifetime pesticide use and telomere shortening among male pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2013 ; 121 : 919-24.

Houston TE, Mutter LC, Blanke RV, *et al*. Chlordecone alcohol formation in the Mongolian gerbil (Meriones unguiculatus): a model for human metabolism of chlordecone (Kepone). *Fundam Appl Toxicol* 1981 ; 1 : 293-8.

Hsing AW, Devesa SS. Trends and patterns of prostate cancer: what do they suggest? *Epidemiol Rev* 2001 ; 23 : 3-13.

Hu K, Tian Y, Du Y, *et al*. Atrazine promotes RM1 prostate cancer cell proliferation by activating STAT3 signaling. *Int J Oncol* 2016 ; 48 : 2166-74.

Huang ES, Nelson FR. Anti-estrogenic action of chlordecone in rat pituitary gonadotrophs in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986 ; 82 : 62-9.

IARC. *Some halogenated hydrocarbons: Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 20. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 1979 : 609 p.

Ibrahim T, Flamini E, Mercatali L, *et al*. Pathogenesis of osteoblastic bone metastases from prostate cancer. *Cancer* 2010 ; 116 : 1406-18.

Inoue K, Nakazawa K, Obama T, *et al*. Chlordecone inhibits three types of ion channels in a neural cell line. *Pharmacol Toxicol* 1990 ; 67 : 444-6.

Inserm. *Cancer : Approche méthodologique du lien avec l'environnement*. Collection *Expertise Collective*. Paris : Éditions Inserm, 2005 : 92 p.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Éditions Inserm, 2008 : 889 p.

IPCS. International Programme on Chemical Safety & Task Group Meeting on Environmental Health Criteria for Organochlorine Pesticides other than DDT (Chlordane) Heptachlor Mirex Chlordecone Kelevan Camphechlor. Chlordecone/ publié sous la triple égide du Programme des Nations Unies pour l'environnement, de l'Organisation international du travail et de l'Organisation mondiale de la Santé. Genève : Organisation mondiale de la Santé. 1984.

Jaeger RJ. Kepone chronology. *Science* 1976 ; 193 : 94-6.

Jéhannin-Ligier K, Dantony E, Bossard N, *et al*. *Projection de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine en 2017. Rapport technique*. Saint-Maurice, 2 janvier 2017 : 80 p.

Jinna RR, Uzodinma JE, Desaiah D. Age-related changes in rat brain ATPases during treatment with chlordecone. *J Toxicol Environ Health A* 1989 ; 27 : 199-208.

Joachim-Contaret C, Véronique-Baudin J, Macni J, *et al*. *Estimations régionales et départementales d'incidence et de mortalité par cancers en France, 2007-2016. Martinique*. Saint-Maurice : Santé publique France, 2019 : 106 p.

Joffe MM. Invited commentary: screening as a nuisance variable in cancer epidemiology: methodological considerations. *Am J Epidemiol* 2003 ; 157 : 962-4.

Jones RR, Barone-Adesi F, Koutros S, *et al*. Incidence of solid tumours among pesticide applicators exposed to the organophosphate insecticide diazinon in the Agricultural Health Study: an updated analysis. *Occup Environ Med* 2015 ; 72 : 496-503.

Kachuri L, Harris MA, MacLeod JS, *et al*. Cancer risks in a population-based study of 70,570 agricultural workers: results from the Canadian census health and Environment cohort (CanCHEC). *BMC Cancer* 2017 ; 17 : 343.

Kadhel P, Monfort C, Costet N, *et al*. Chlordecone exposure, length of gestation, and risk of preterm birth. *Am J Epidemiol* 2014 ; 179 : 536-44.

Kalantzi OI, Hewitt R, Ford KJ, *et al*. Low dose induction of micronuclei by lindane. *Carcinogenesis* 2004 ; 25 : 613-22.

Karami S, Andreotti G, Koutros S, *et al*. Pesticide exposure and inherited variants in vitamin d pathway genes in relation to prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013 ; 22 : 1557-66.

Karami S, Han Y, Pande M, *et al*. Telomere structure and maintenance gene variants and risk of five cancer types. *Int J Cancer* 2016 ; 139 : 2655-70.

Kavlock RJ, Chernoff N, Rogers E, *et al*. Comparative tissue distribution of mirex

and chlordecone in fetal and neonatal rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 1980 ; 14 : 227-35.

Kelce WR, Stone CR, Laws SC, *et al.* Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 1995 ; 375 : 581-5.

Kelce WR, Lambright CR, Gray LE, *et al.* Vinclozolin and p,p'-DDE alter androgen-dependent gene expression : in vivo confirmation of an androgen receptor-mediated mechanism. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997 ; 142 : 192-200.

Khanna M, Qin KN, Wang RW, *et al.* Substrate specificity, gene structure, and tissue-specific distribution of multiple human 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenases. *J Biol Chem* 1995 ; 270 : 20162-8.

Kim H-J, Park YI, Dong M-S. Effects of 2,4-D and DCP on the DHT-induced androgenic action in human prostate cancer cells. *Toxicol Sci* 2005 ; 88 : 52-9.

Kitchin KT, Brown JL. Biochemical studies of promoters of carcinogenesis in rat liver. *Teratog Carcinog Mutagen* 1989 ; 9 : 273-85.

Kocarek TA, Schuetz EG, Guzelian PS. Selective induction of cytochrome P450e by Kepone (chlordecone) in primary cultures of adult rat hepatocytes. *Mol Pharmacol* 1991 ; 40 : 203-10.

Kocarek TA, Schuetz EG, Guzelian PS. Regulation of cytochrome P450 2B1/2 mRNAs by Kepone (chlordecone) and potent estrogens in primary cultures of adult rat hepatocytes on Matrigel. *Toxicol Lett* 1994 ; 71 : 183-96.

Komulainen H, Bondy SC. Modulation of levels of free calcium within synaptosomes by organochlorine insecticides. *J Pharmacol Exp Ther* 1987 ; 241 : 575-81.

Koutros S, Beane Freeman LE, Berndt SI, *et al.* Pesticide use modifies the association between genetic variants on chromosome 8q24 and prostate cancer. *Cancer Res* 2010 ; 70 : 9224-33.

Koutros S, Beane Freeman LE, Lubin JH, *et al.* Risk of total and aggressive prostate cancer and pesticide use in the Agricultural Health Study. *Am J Epidemiol* 2013a ; 177 : 59-74.

Koutros S, Berndt SI, Hughes Barry K, *et al.* Genetic susceptibility loci, pesticide exposure and prostate cancer risk. *PLoS One* 2013b ; 8 : e58195.

Kristensen KB, Jensen PH, Skriver C, *et al.* Use of vitamin K antagonists and risk of prostate cancer: Meta-analysis and nationwide case-control study. *Int J Cancer* 2018 ; 144 : 1522-9.

Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, *et al.* Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 1998 ; 139 : 4252-63.

Kume T, Iwasa H, Shiraishi H, *et al.* Characterization of a novel variant (S145C/L311V) of 3alpha-hydroxysteroid/dihydrodiol dehydrogenase in human liver. *Pharmacogenetics* 1999 ; 9 : 763-71.

Larson PS, Egle JL, Hennigar GR, *et al.* Acute, subchronic, and chronic toxicity of chlordecone. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979 ; 48 : 29-41.

Laurent V, Guérard A, Mazerolles C, *et al.* Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity. *Nat Commun* 2016 ; 7 : 10230.

Le Déaut J-Y, Procaccia C. *Impacts de l'utilisation de la chlordécone et des pesticides aux Antilles : bilan et perspectives d'évolution : Rapport de Mme Catherine PROCACCIA, sénateur et M. Jean-Yves LE DEAUT, député, fait au nom de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques*. Paris : Assemblée Nationale Sénat, 2009.

Lee J, Scheri RC, Zhang Y, *et al.* Chlordecone, a mixed pregnane X receptor (PXR) and estrogen receptor alpha (ERalpha) agonist, alters cholesterol homeostasis and lipoprotein metabolism in C57BL/6 mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008 ; 233 : 193-202.

Legoff L, D'Cruz SC, Lebosq M, et coll. Developmental exposure to chlordecone induces transgenerational effects in somatic prostate tissue which are associated with epigenetic histone trimethylation changes. *Environ Int* 2021 ; 152 : 106472.

Lemaire G, Sousa G de, Rahmani R. A PXR reporter gene assay in a stable cell culture system: CYP3A4 and CYP2B6 induction by pesticides. *Biochem Pharmacol* 2004 ; 68 : 2347-58.

Lemaire G, Mnif W, Pascussi J-M, *et al.* Identification of new human pregnane X receptor ligands among pesticides using a stable reporter cell system. *Toxicological Sciences* 2006a ; 91 : 501-9.

Lemaire G, Mnif W, Mauvais P, *et al.* Activation of alpha- and beta-estrogen receptors by persistent pesticides in reporter cell lines. *Life Sci* 2006b ; 79 : 1160-9.

Lemarchand C, Tual S, Boulanger M, *et al.* Prostate cancer risk among French farmers in the AGRICAN cohort. *Scand J Work Environ Health* 2016a ; 42 : 144-52.

Lemarchand C, Tual S, Boulanger M, *et al.* Occupational exposure to organochlorine insecticides and prostate cancer risk in agrican. *Occup Environ Med* 2016b ; 73 : A43-A44.

Lemarchand C, Tual S, Leveque-Morlais N, *et al.* Cancer incidence in the AGRICAN cohort study (2005-2011). *Cancer Epidemiol* 2017 ; 49 : 175-85.

Lerro CC, Koutros S, Andreotti G, *et al.* Use of acetochlor and cancer incidence in the Agricultural Health Study. *Int J Cancer* 2015 ; 137 : 1167-75.

Lerro CC, Andreotti G, Koutros S, *et al.* Alachlor use and cancer incidence in the Agricultural Health Study: an updated analysis. *J Natl Cancer Inst* 2018 ; 110 : 950-59.

Lewis-Mikhael A-M, Bueno-Cavanillas A, Ofir Guiron T, *et al.* Occupational exposure to pesticides and prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Occup Environ Med* 2016 ; 73 : 134-44.

Li J, Li N, Ma M, *et al.* In vitro profiling of the endocrine disrupting potency of organochlorine pesticides. *Toxicol Lett* 2008 ; 183 : 65-71.

Li Q, Lambrechts MJ, Zhang Q, *et al.* Glyphosate and AMPA inhibit cancer cell growth through inhibiting intracellular glycine synthesis. *Drug Des Devel Ther* 2013 ; 7 : 635-43.

Lim J-E, Nam C, Yang J, *et al*. Serum persistent organic pollutants (POPs) and prostate cancer risk: A case-cohort study. *Int J Hyg Environ Health* 2017 ; 220 : 849-56.

Lynch SM, Mahajan R, Beane Freeman LE, *et al*. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to butylate in the Agricultural Health Study (AHS). *Environ Res* 2009 ; 109 : 860-8.

Ma L, Li J, Nie Q, *et al*. Organoid culture of human prostate cancer cell lines LNCaP and C4-2B. *Am J Clin Exp Urol* 2017 ; 5 : 25-33.

Mactutus CF, Unger KL, Tilson HA. Neonatal chlordecone exposure impairs early learning and memory in the rat on a multiple measure passive avoidance task. *Neurotoxicology* 1982 ; 3 : 27-44.

Mactutus CF, Tilson HA. Neonatal chlordecone exposure impairs early learning and retention of active avoidance in the rat. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1984 ; 6 : 75-83.

Mactutus CF, Unger KL, Tilson H. Evaluation of neonatal chlordecone neurotoxicity during early development: Initial characterization. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1984 ; 6 (1) : 67-73.

Mactutus CF, Tilson HA. Evaluation of long-term consequences in behavioral and/or neural function following neonatal chlordecone exposure. *Teratology* 1985 ; 31 : 177-86.

Mahajan R, Blair A, Lynch CF, *et al*. Fonofos exposure and cancer incidence in the agricultural health study. *Environ Health Perspect* 2006a ; 114 : 1838-42.

Mahajan R, Bonner MR, Hoppin JA, *et al*. Phorate exposure and incidence of cancer in the agricultural health study. *Environ Health Perspect* 2006b ; 114 : 1205-9.

Mallick S, Blanchet P, Multigner L. Prostate cancer incidence in guadeloupe, a French Caribbean archipelago. *Eur Urol* 2005 ; 47 : 769-72.

Marusyk A, Almendro V, Polyak K. Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for cancer? *Nat Rev Cancer* 2012 ; 12 : 323-34.

Maslansky CJ, Williams GM. Evidence for an epigenetic mode of action in organochlorine pesticide hepatocarcinogenicity: a lack of genotoxicity in rat, mouse, and hamster hepatocytes. *J Toxicol Environ Health A* 1981 ; 8 : 121-30.

Meacham CE, Morrison SJ. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature* 2013 ; 501 : 328-37.

Medjakovic S, Zoechling A, Gerster P, *et al*. Effect of nonpersistent pesticides on estrogen receptor, androgen receptor, and aryl hydrocarbon receptor. *Environ Toxicol* 2014 ; 29 : 1201-16.

Mehendale HM, Takanaka A, Desaiah D, *et al*. Kepone induction of hepatic mixed function oxidases in the male rat. *Life Sci* 1977 ; 20 : 991-97.

Mian OY, Khattab MH, Hedayati M, *et al*. GSTP1 Loss results in accumulation of oxidative DNA base damage and promotes prostate cancer cell survival following exposure to protracted oxidative stress. *Prostate* 2016 ; 76 : 199-206.

Mitchell T, Neal DE. The genomic evolution of human prostate cancer. *Br J Cancer* 2015 ; 113 : 193-8.

Molowa DT, Shayne AG, Guzelian PS. Purification and characterization of chlordecone reductase from human liver. *J Biol Chem* 1986a ; 261 : 12624-7.

Molowa DT, Wrighton SA, Blanke RV, *et al*. Characterization of a unique aldo-keto reductase responsible for the reduction of chlordecone in the liver of the gerbil and man. *J Toxicol Environ Health* A 1986b ; 17 : 375-84.

Morel Y, Barouki R. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J* 1999 ; 342 : 481.

Morgan TO, Jacobsen SJ, McCarthy WF, *et al*. Age-specific reference ranges for serum prostate-specific antigen in black men. *N Engl J Med* 1996 ; 335 : 304-10.

Mortelmans K, Haworth S, Lawlor T, *et al*. Salmonella mutagenicity tests: II. Results from the testing of 270 chemicals. *Environ Mutagen* 1986 ; 8 Suppl 7 : 1-119.

Multigner L, Kadhel P, Huc-Terki F, *et al*. Exposure to chlordecone and male fertility in Guadeloupe (French West Indies). *Epidemiology* 2006 ; 17 : S372.

Multigner L, Kadhel P. *Exposition à des polluants environnementaux chez la femme enceinte et son enfant en Guadeloupe. Niveaux de chlordécone dans le sang maternel et étude des déterminants de l'imprégnation*. INSERM U625 & Service Gynécologie-Obstétrique CHU Pointe à Pitre, 2008.

Multigner L, Kadhel P, Pascal M, *et al*. Parallel assessment of male reproductive function in workers and wild rats exposed to pesticides in banana plantations in Guadeloupe. *Environ Health* 2008 ; 7 : 40.

Multigner L, Ndong JR, Viana E, *et al*. Séjour en france continentale et risque de survenue du cancer de la prostate dans une population caribéenne d'ascendance africaine subsaharienne. *Progrès en urologie* 2009 ; 19 : 677-8.

Multigner L, Ndong JR, Giusti A, *et al*. Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 3457-62.

Multigner L, Brureau L, Blanchet P. Le cancer de la prostate aux Antilles françaises : État des lieux. : Prostate cancer in the french west indies: current situation. *Bull Epidemiol Hebd* 2016 ; 39-40 : 730-5.

Nassar ZD, Aref AT, Miladinovic D, *et al*. Peri-prostatic adipose tissue: the metabolic microenvironment of prostate cancer. *BJU Int* 2018 ; 121 Suppl 3 : 9-21.

Nawaz M, Camussi G, Valadi H, *et al*. The emerging role of extracellular vesicles as biomarkers for urogenital cancers. *Nat Rev Urol* 2014 ; 11 : 688-701.

Nelles JL, Hu W-Y, Prins GS. Estrogen action and prostate cancer. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2011 ; 6 : 437-51.

Noone AM, Howlader N, Krapcho M, *et al*. *SEER Cancer Statistics Review (CSR) 1975-2015*. Bethesda, MD, based on 2017 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2018.

NTP. *Report on Carcinogenesis Bioassay of Technical Grade Chlordecone (Kepone) (CAS No. 143-50-0)*. NTP, 1976.

Okubo T, Yokoyama Y, Kano K, *et al*. Estimation of estrogenic and antiestrogenic activities of selected pesticides by MCF-7 cell proliferation assay. *Arch Environ Contam Toxicol* 2004 ; 46 : 445-53.

Owens W, Gray LE, Zeiger E, *et al*. The OECD program to validate the rat Hershberger bioassay to screen compounds for in vivo androgen and antiandrogen responses: phase 2 dose-response studies. *Environ Health Perspect* 2007 ; 115 : 671-8. •

Packer JR, Maitland NJ. The molecular and cellular origin of human prostate cancer. *Biochim Biophys Acta* 2016 ; 1863 : 1238-60.

Palmiter RD, Mulvihill ER. Estrogenic activity of the insecticide Kepone on the chicken oviduct. *Science* 1978 ; 201 : 356-8.

Pan C, Wang Q, Liu Y-P, *et al*. Anti-androgen effects of the pyrethroid pesticide cypermethrin on interactions of androgen receptor with corepressors. *Toxicology* 2013 ; 311 : 178-83.

Penning TM, Burczynski ME, Jez JM, *et al*. Human 3alpha-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms (AKR1C1-AKR1C4) of the aldo-keto reductase superfamily: functional plasticity and tissue distribution reveals roles in the inactivation and formation of male and female sex hormones. *Biochem J* 2000 ; 351 : 67-77.

Pernar CH, Ebot EM, Wilson KM, *et al*. The epidemiology of prostate cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018 ; 8 : pii : a030361.

Pi N, Chia SE, Ong CN, *et al*. Associations of serum organohalogen levels and prostate cancer risk: Results from a case-control study in Singapore. *Chemosphere* 2016 ; 144 : 1505-12.

Porta M, Jariod M, López T, *et al*. Correcting serum concentrations of organochlorine compounds by lipids: alternatives to the organochlorine/total lipids ratio. *Environ Int* 2009 ; 35 : 1080-5.

Prezioso D, Denis LJ, Klocker H, *et al*. Estrogens and aspects of prostate disease. *Int J Urol* 2007 ; 14 : 1-16.

Prins GS. Endocrine disruptors and prostate cancer risk. *Endocr Relat Cancer* 2008 ; 15 : 649-56.

Probst GS, McMahon RE, Hill LE, *et al*. Chemically-induced unscheduled DNA synthesis in primary rat hepatocyte cultures: a comparison with bacterial mutagenicity using 218 compounds. *Environ Mutagen* 1981 ; 3 : 11-32.

Ragin C, Davis-Reyes B, Tadesse H, *et al*. Farming, reported pesticide use, and prostate cancer. *Am J Mens Health* 2013 ; 7 : 102-9.

Ralph JL, Orgebin-Crist M-C, Lareyre J-J, *et al*. Disruption of androgen regulation in the prostate by the environmental contaminant hexachlorobenzene. *Environ Health Perspect* 2003 ; 111 : 461-6.

Ray S, Xu F, Li P, *et al*. Increased level of cellular Bip critically determines estrogenic potency for a xenoestrogen Kepone in the mouse uterus. *Endocrinology* 2007 ; 148 : 4774-85.

Rebbeck TR. Prostate cancer disparities by race and ethnicity: from nucleotide to neighborhood. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2018 ; 8 : pii : a030387.

Renner W, Krenn-Pilko S, Gruber H-J, *et al*. Relative telomere length and prostate cancer mortality. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2018 ; 21 : 579-83.

Reuber MD. Carcinogenicity of Kepone. *J Toxicol Environ Health A* 1978 ; 4 : 895-911.

Reuber MD. The carcinogenicity Kepone. *J Environ Pathol Toxicol* 1979 ; 2 : 671-86.

Rich AR. Classics in oncology. On the frequency of occurrence of occult carcinoma of the prostate. *Journal of Urology* 1935 ; 33 : 215-23.

Ricke WA, McPherson SJ, Bianco JJ, *et al*. Prostatic hormonal carcinogenesis is mediated by in situ estrogen production and estrogen receptor alpha signaling. *FASEB J* 2008 ; 22 : 1512-20.

Robitaille CN, Rivest P, Sanderson JT. Antiandrogenic mechanisms of pesticides in human LNCaP prostate and H295R adrenocortical carcinoma cells. *Toxicol Sci* 2015 ; 143 : 126-35.

Rubini E, Altieri F, Chichiarelli S, *et al*. STAT3, a hub protein of cellular signaling pathways, is triggered by β-Hexaclorocyclohexane. *Int J Mol Sci* 2018 ; 19 : pii : E2108.

Rusiecki JA, Beane Freeman LE, Bonner MR, *et al*. High pesticide exposure events and DNA methylation among pesticide applicators in the agricultural health study. *Environ Mol Mutagen* 2017 ; 58 : 19-29.

Sánchez-Aragó M, Formentini L, Martínez-Reyes I, *et al*. Expression, regulation and clinical relevance of the ATPase inhibitory factor 1 in human cancers. *Oncogenesis* 2013 ; 2 : e46.

Schlesinger M, Bendas G. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)-an increasing insight into its role in tumorigenicity and metastasis. *Int J Cancer* 2015 ; 136 : 2504-14.

Schoeny RS, Smith CC, Loper JC. Non-mutagenicity for Salmonella of the chlorinated hydrocarbons aroclor 1254, 1,2,4-trichlorobenzene, mirex and Kepone. *Mutat Res* 1979 ; 68 : 125-32.

Schrader TJ, Cooke GM. Examination of selected food additives and organochlorine food contaminants for androgenic activity in vitro. *Toxicological Sciences* 2000 ; 53 : 278-88.

Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, *et al*. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet* 2014 ; 384 : 2027-35.

Schulze H, Claus S. Histological localization of estrogen receptors in normal and diseased human prostates by immunocytochemistry. *Prostate* 1990 ; 16 : 331-43.

Scippo M-L, Argiris C, van de Weerdt C, *et al*. Recombinant human estrogen, androgen and progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors. *Anal Bioanal Chem* 2004 ; 378 : 664-69.

Sfanos KS, Yegnasubramanian S, Nelson WG, *et al.* The inflammatory microenvironment and microbiome in prostate cancer development. *Nat Rev Urol* 2018 ; 15 : 11-24.

Shah S, Hess-Wilson JK, Webb S, *et al.* 2,2-bis(4-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene stimulates androgen independence in prostate cancer cells through combinatorial activation of mutant androgen receptor and mitogen-activated protein kinase pathways. *Mol Cancer Res* 2008 ; 6 : 1507-20.

Sharma M, Lawson JA, Kanthan R, *et al.* Factors associated with the prevalence of prostate cancer in rural Saskatchewan: The Saskatchewan Rural Health Study. *J Rural Health* 2016 ; 32 : 125-35.

Sharpe CR, Siemiatycki J, Parent ME. Activities and exposures during leisure and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001 ; 10 : 855-60.

Shiao SL, Chu GC-Y, Chung LWK. Regulation of prostate cancer progression by the tumor microenvironment. *Cancer Lett* 2016 ; 380 : 340-8.

Shin J-Y, Choi YY, Jeon H-S, *et al.* Low-dose persistent organic pollutants increased telomere length in peripheral leukocytes of healthy Koreans. *Mutagenesis* 2010 ; 25 : 511-6.

Shiota M, Yokomizo A, Takeuchi A, *et al.* Protein kinase C regulates Twist1 expression via NF-κB in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2017 ; 24 : 171-80.

Shukla-Dave A, Castillo-Martin M, Chen M, *et al.* Ornithine decarboxylase is sufficient for prostate tumorigenesis via androgen receptor signaling. *Am J Pathol* 2016 ; 186 : 3131-45.

Silver SR, Bertke SJ, Hines CJ, *et al.* Cancer incidence and metolachlor use in the Agricultural Health Study: An update. *Int J Cancer* 2015 ; 137 : 2630-43.

Simon GS, Tardiff RG, Borzelleca JF. Failure of hexachlorobenzene to induce dominant lethal mutations in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1979 ; 47 : 415-9.

Simon GS, Egle JL, Dougherty RW, *et al.* Dominant lethal assay of chlordecone and its distribution in the male reproductive tissues of the rat. *Toxicol Lett* 1986 ; 30 : 237-45.

Sirica AE, Wilkerson CS, Wu LL, *et al.* Evaluation of chlordecone in a two-stage model of hepatocarcinogenesis: a significant sex difference in the hepatocellular carcinoma incidence. *Carcinogenesis* 1989 ; 10 : 1047-54.

Skalsky HL, Fariss MW, Blanke RV, *et al.* The role of plasma proteins in the transport and distribution of chlordecone (Kepone) and other polyhalogenated hydrocarbons. *Ann N Y Acad Sci* 1979 ; 320 : 231-7.

Snegaroff J. Organochlorinated insecticide residues in the grounds and the rivers of the bananiere area of Guadeloupe [in French]. *Phytiatrie Phytopharmacie* 1977 ; 26 : 251-68.

Soine PJ, Blanke RV, Guzelian PS, *et al.* Preferential binding of chlordecone to the protein and high density lipoprotein fractions of plasma from humans and other species. *J Toxicol Environ Health A* 1982 ; 9 : 107-18.

Soine PJ, Blanke RV, Schwartz CC. Chlordecone metabolism in the pig. *Toxicol Lett* 1983 ; 17 : 35-41.

Soine PJ, Blanke RV, Chinchilli VM, *et al*. High-density lipoproteins decrease the biliary concentration of chlordecone in isolated perfused pig liver. *J Toxicol Environ Health A* 1984 ; 14 : 319-35.

Srirangam V, Rai BP, Abroaf A, *et al*. Atypical small acinar proliferation and high grade prostatic intraepithelial neoplasia: should we be concerned? An observational cohort study with a minimum follow-up of 3 years. *Curr Urol* 2017 ; 10 : 199-205.

Starcevic SL, Bortolin S, Woodcroft KJ, *et al*. Kepone (chlordecone) disrupts adherens junctions in human breast epithelial cells cultured on matrigel. *In Vivo* 2001 ; 15 : 289-94.

Sun X, Cheng G, Hao M, *et al*. CXCL12/CXCR4/CXCR7 chemokine axis and cancer progression. *Cancer Metastasis Rev* 2010 ; 29 : 709-22.

Tai H-C, Chang A-C, Yu H-J, *et al*. Osteoblast-derived WNT-induced secreted protein 1 increases VCAM-1 expression and enhances prostate cancer metastasis by down-regulating miR-126. *Oncotarget* 2014 ; 5 : 7589-98.

Taichman RS, Cooper C, Keller ET, *et al*. Use of the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 pathway in prostate cancer metastasis to bone. *Cancer Res* 2002 ; 62 : 1832-7.

Taplin ME, Ho SM. Clinical review 134: The endocrinology of prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 ; 86 : 3467-77.

Taylor JR. Neurological manifestations in humans exposed to chlordecone and follow-up results. *Neurotoxicology* 1982 ; 3 : 9-16.

Taylor JR. Neurological manifestations in humans exposed to chlordecone: follow-up results. *Neurotoxicology* 1985 ; Spring ; 6 : 231-6.

Taylor JR, Selhorst JB, Houff SA, *et al*. Chlordecone intoxication in man. I. Clinical observations. *Neurology* 1978 ; 28 : 626-30.

Tessier DM, Matsumura F. Increased ErbB-2 tyrosine kinase activity, MAPK phosphorylation, and cell proliferation in the prostate cancer cell line LNCaP following treatment by select pesticides. *Toxicol Sci* 2001 ; 60 : 38-43.

Tew BY, Pal SK, He M, *et al*. Vitamin K epoxide reductase expression and prostate cancer risk. *Urol Oncol* 2017 ; 35 : 112.e13-112.e18.

Thomas P, Dong J. Binding and activation of the seven-transmembrane estrogen receptor GPR30 by environmental estrogens: a potential novel mechanism of endocrine disruption. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006 ; 102 : 175-9.

Tomasetti C, Li L, Vogelstein B. Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science* 2017 ; 355 : 1330-4.

Tonon L, Fromont G, Boyault S, *et al*. Mutational profile of aggressive, localised prostate cancer from African Caribbean men versus European ancestry men. *Eur Urol* 2019 ; 75 : 11-5.

Tsushimoto G, Trosko JE, Chang CC, *et al*. Inhibition of intercellular communication by chlordecone (Kepone) and mirex in Chinese hamster v79 cells in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 1982 ; 64 : 550-6.

US EPA. *IRIS Toxicological Review and Summary Documents for Chlordecone*. US Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2009.

Vonier PM, Crain DA, McLachlan JA, *et al*. Interaction of environmental chemicals with the estrogen and progesterone receptors from the oviduct of the American alligator. *Environ Health Perspect* 1996 ; 104 : 1318-22.

Wallace DC. Mitochondria and cancer. *Nat Rev Cancer* 2012 ; 12 : 685-98.

Wang F, Roberts SM, Butfiloski EJ, *et al*. Acceleration of autoimmunity by organochlorine pesticides: a comparison of splenic B-cell effects of chlordecone and estradiol in (NZBxNZW)F1 mice. *Toxicol Sci* 2007 ; 99 : 141-52.

Wang Q, Wang H, Ju Q, *et al*. The co-regulators SRC-1 and SMRT are involved in interleukin-6-induced androgen receptor activation. *Eur Cytokine Netw* 2016a ; 27 : 108-13.

Wang Q, Zhou J-L, Wang H, *et al*. Inhibition effect of cypermethrin mediated by co-regulators SRC-1 and SMRT in interleukin-6-induced androgen receptor activation. *Chemosphere* 2016b ; 158 : 24-9.

Weiss NS. Adjusting for screening history in epidemiologic studies of cancer: why, when, and how to do it. *Am J Epidemiol* 2003a ; 157 : 957-61.

Weiss NS. Weiss responds to « Screening as a nuisance variable in cancer epidemiology »: for which aspects of a study subject's screening history should we control? *Am J Epidemiol* 2003b ; 157 : 965.

Wilkie-Grantham RP, Matsuzawa SI, Reed JC. Novel phosphorylation and ubiquitination sites regulate reactive oxygen species-dependent degradation of anti-apoptotic c-FLIP protein. *J Biol Chem* 2013 ; 288 : 12777-90.

Williams GM. Classification of genotoxic and epigenetic hepatocarcinogens using liver culture assays. *Ann N Y Acad Sci* 1980 ; 349 : 273-82.

Williams J, Eckols K, Uphouse L. Estradiol and chlordecone interactions with the estradiol receptor. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989 ; 98 : 413-21.

Witte JS, Goddard KA, Conti DV, *et al*. Genomewide scan for prostate cancer-aggressiveness loci. *Am J Hum Genet* 2000 ; 67 : 92-9.

Wong LIL, Labrecque MP, Ibuki N, *et al*. p,p'-Dichlorodiphenyltrichloroethane (p,p'-DDT) and p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p'-DDE) repress prostate specific antigen levels in human prostate cancer cell lines. *Chem Biol Interact* 2015 ; 230 : 40-9.

Yang L, Zhou B, Zha J, *et al*. Mechanistic study of chlordecone-induced endocrine disruption: Based on an adverse outcome pathway network. *Chemosphere* 2016 ; 161 : 372-81.

Zlotta AR, Egawa S, Pushkar D, *et al*. Prevalence of prostate cancer on autopsy: cross-sectional study on unscreened Caucasian and Asian men. *J Natl Cancer Inst* 2013 ; 105 : 1050-8.

13
Cancer du sein

Les glandes mammaires ont pour principale fonction biologique la production du lait. Chaque sein contient une glande mammaire, composée de quinze à vingt compartiments séparés par du tissu graisseux ainsi que par du tissu de soutien qui contient des vaisseaux sanguins, des vaisseaux et ganglions lymphatiques, des fibres de collagène et de la graisse. Chacun des compartiments de la glande mammaire est constitué de lobules et de canaux galactophores. Le rôle des lobules est de produire le lait en période d'allaitement. Les canaux transportent le lait vers le mamelon. La glande mammaire se développe et fonctionne sous l'influence des hormones stéroïdes sexuelles, notamment les œstrogènes et la progestérone.

Les cancers du sein sont des adénocarcinomes dans 95 % des cas, c'est-à-dire qu'ils se développent à partir des cellules épithéliales de la glande mammaire. Les adénocarcinomes se développent le plus fréquemment à partir des cellules des canaux et plus rarement à partir des cellules des lobules.

Incidence et mortalité

Le nombre de nouveaux cas de cancer du sein chez la femme en France en 2018 a été estimé à 58 459 avec un âge médian au diagnostic de 63 ans (Defossez et coll., 2019). Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Le taux d'incidence standardisé à l'âge de la population mondiale (TIS-M) a été estimé à 99,9 cas pour 100 000 personnes-années et progresse selon l'âge à partir de l'âge de 30 ans pour atteindre un maximum entre 70 et 74 ans. L'incidence est hétérogène selon les départements. Sur la période 2007-2016, les TIS-M les plus élevés ont été observés à Paris (111), le Nord (106) et les Yvelines (104) et les TIS-M les plus bas en Guyane (53 pour la période 2010-2014), en Martinique (61 pour la période 2007-2014) et en Guadeloupe (66 pour la période 2008-2014) (Deloumeaux et coll., 2019).

Entre 1990 et 2018, l'accroissement d'incidence du cancer du sein a été en moyenne de 1,1 %. Cependant, cette évolution n'a pas été régulière avec une forte augmentation en début de cette période, puis une légère diminution entre 2005 et 2009 puis une reprise modérée à la hausse jusqu'en 2018. De multiples facteurs peuvent expliquer ces variations, en commençant par l'évolution des pratiques de dépistage, de la vie reproductive et des modes de vie (voir section « Étiologie et facteurs de risque »).

Avec 12 146 décès par cancer du sein en 2018, le cancer du sein est au premier rang des décès par cancer chez la femme avec un âge médian au décès de 74 ans (Defossez et coll., 2019). Le taux de mortalité standardisé à l'âge de la population mondiale (TMS-M) est de 14,0 décès pour 100 000 personnes-années. Sur la période 2007-2014, les TMS-M les plus élevés ont été observés dans le Pas-de-Calais (21,0), le Nord (20,0) et la Somme (19,0) et les TMS-M les plus bas en Guyane (11,0), dans les Alpes-Maritimes (13,0) et la Haute-Garonne, le Var, en Guadeloupe et en Martinique (13,0) (Deloumeaux et coll., 2019). Globalement, les taux de mortalité suivent une évolution inverse à ceux de l'incidence, avec une diminution moyenne annuelle de 1,3 % entre 1990 et 2018. Cette diminution pourrait être expliquée par l'amélioration des traitements ainsi que par le dépistage permettant un diagnostic à des stades plus précoces, et donc curables, de la maladie.

Étiologie et facteurs de risque

Comme pour de nombreux cancers, l'étiologie du cancer du sein est en grande partie inconnue. Cependant, de nombreux facteurs de risque ont été identifiés, certains étant liés à des facteurs hormonaux et reproductifs. L'âge précoce aux premières règles, des cycles plus courts, un âge tardif à la première grossesse ou à la ménopause, la prise de certains traitements hormonaux (notamment de la ménopause), la consommation d'alcool, le tabagisme, le surpoids chez la femme ménopausée, l'obésité, l'activité physique réduite et l'exposition à des radiations ionisantes ont été associés à un excès de risque alors qu'un nombre élevé de grossesses et l'allaitement diminuent le risque (Ban et Godellas, 2014 ; Colditz et Bohlke, 2014 ; Macacu et coll., 2015 ; Picon-Ruiz et coll., 2017). Le travail de nuit a été classé comme cancérogène probable (groupe 2A) par le Circ sur la base de données mécanistiques et expérimentales (Ward et coll., 2019). Cependant, en dépit de nombreuses études observationnelles, les conclusions sur un plan épidémiologique sont encore controversées au regard du risque de survenue du cancer du sein (Travis et coll., 2016 ; Wegrzyn et coll., 2017 ; Cordina-Duverger et coll., 2018 ; Jones et coll., 2019).

La présence d'antécédents familiaux de cancers, notamment ceux dits « hormono-dépendants » (sein, ovaire), est également un facteur de risque reconnu du cancer du sein. Cela peut traduire soit la présence de facteurs modifiables communs (par exemple, modes de vie) au sein d'une famille mais également la présence de facteurs génétiques favorisant le développement de la maladie. Il existe également une variabilité dans l'incidence du cancer du sein en fonction des origines ethno-géographiques. En effet, toutes choses étant égales par ailleurs, les populations d'origine caucasienne sont plus à risque de développer un cancer du sein que les populations d'origine africaine sub-saharienne ou asiatique, traduisant la présence de facteurs de susceptibilité génétique ou épigénétique individuels plus fréquents. On estime par ailleurs, que 5 à 10 % des cancers du sein sont héréditaires et attribuables à des mutations génétiques. Parmi elles, les plus fréquentes affectent les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. D'autres mutations, plus rares, ont été décrites et affectent des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN ou dans l'arrêt de la multiplication des cellules en cas de lésion au niveau de l'ADN, tels que *TP53*, *CHEK2*, *ATM*, *PTEN* ou *STK11*.

Premières données épidémiologiques

En 1993, Wolff et coll. ont publié une étude portant sur 58 cas de cancer du sein et 171 témoins nichés au sein de la cohorte *New York University Women's Health Study* aux États-Unis composée de 14 290 femmes (Wolff et coll., 1993). En utilisant des prélèvements sanguins obtenus entre 1985 et 1991, les auteurs ont rapporté un risque augmenté de survenue de cancer du sein chez les femmes les plus exposées au dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE), le principal métabolite du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) un insecticide organochloré. Cependant, dès 1994, une nouvelle étude portant sur 150 cas et 150 témoins nichés au sein d'une cohorte de 57 040 femmes habitant dans la région de la baie de San Francisco aux États-Unis (pour lesquelles un prélèvement sanguin avait été obtenu vers la fin des années 1960 et qui ont fait l'objet d'un suivi jusqu'en 1990) n'a pas montré d'association entre les niveaux d'exposition au DDE et le risque de survenue du cancer du sein (Krieger et coll., 1994).

Ces deux études, réalisées en partie par les mêmes auteurs et contradictoires dans leurs conclusions ont été à l'origine d'un engouement scientifique et sociétal concernant l'impact des pesticides dans la survenue du cancer du sein. Cela s'explique par la diffusion généralisée des pesticides, notamment des insecticides organochlorés, dans l'environnement et la chaîne alimentaire (Hunter et Kelsey, 1993) mais aussi par leur capacité à interagir avec

les récepteurs aux œstrogènes ou aux androgènes, ce qui est notamment le cas pour le DDE (Kelce et coll., 1995).

Ceci a généré l'hypothèse que les pesticides organochlorés, généralement considérés comme non génotoxiques, pourraient moduler l'expression de gènes intervenant dans le processus cancérogène des tumeurs hormono-dépendantes par activation inappropriée de récepteurs aux stéroïdes. Depuis ces premières études, de nombreuses publications ont abordé cette question, dans un contexte d'exposition professionnelle ou environnementale.

Résumé de l'expertise collective Inserm de 2013

Expositions professionnelles

La majorité des études portant sur le risque de survenue du cancer du sein dans des conditions d'exposition professionnelles ont été réalisées parmi des femmes travaillant dans le secteur agricole, avec des niveaux d'exposition aux pesticides souvent plus faibles que chez leurs homologues masculins. En effet, l'épandage de pesticides dans les cultures agricoles est une tâche plus fréquemment dévolue aux hommes. Toutefois, outre l'épandage direct des produits, les femmes peuvent être exposées lors des tâches de ré-entrées sur des parcelles récemment traitées, à leurs domiciles si, par exemple, elles sont en charge du nettoyage des vêtements et équipement de travail du conjoint ou dans des circonstances résidentielles, lorsque leurs domiciles sont à proximité des champs.

Le risque de cancer du sein, estimé par son incidence, chez les femmes en milieu agricole est très variable d'une étude à l'autre, avec des études montrant soit une augmentation (Band et coll., 2000 ; Gardner et coll., 2002) soit une diminution de risque (Wiklund et Dich, 1994 ; Kristensen et coll., 1996 ; Settimi et coll., 1999 ; Pukkala et coll., 2009 ; Villeneuve et coll., 2011) par rapport à celui observé dans les populations générales respectives. L'interprétation de ces résultats par rapport à l'exposition aux pesticides est difficile, car elle n'est pas toujours bien documentée mais aussi parce que d'autres facteurs, tels que l'alimentation, l'activité physique et les modes de vie peuvent expliquer les différences d'incidence de la maladie.

D'autres études ont tenté de quantifier individuellement les expositions. Ces études, basées sur des déclarations concernant leur présence dans des cultures, pendant ou peu après l'application de pesticides, ou l'application par elles-mêmes de ces produits ont également donné lieu à des conclusions contradictoires. Dans une étude cas-témoins menée en Caroline du Nord aux

États-Unis (862 cas *versus* 790 témoins), Duell et coll. ont retrouvé un risque augmenté de survenue de cancer du sein en cas de présence dans les cultures pendant ou dans les 24 heures suivant les épandages de pesticides mais aussi un risque diminué en cas de domiciliation ou de travail dans une ferme (Duell et coll., 2000). Au sein de la cohorte *Agricultural Health Study* (AHS) aux États-Unis, les auteurs ont constaté un risque diminué de survenue du cancer du sein chez les femmes appliquant des pesticides (sans distinction de matière active) mais un excès de risque en cas d'application de l'herbicide 2,4,5-TP (Engel et coll., 2005).

Sur la base des données existantes en 2013, la précédente expertise collective de l'Inserm a conclu qu'il était impossible d'évaluer de manière complète et détaillée le risque de survenue du cancer du sein chez les femmes exposées professionnellement à des pesticides (Inserm, 2013).

Expositions environnementales

Comme évoqué ci-dessus, les premières études s'adressant au risque de cancer du sein dans un contexte d'exposition environnementale à des insecticides organochlorés, publiées en 1993 et 1994, sont apparues contradictoires quant à leurs conclusions. De très nombreuses études ont été publiées par la suite dans des circonstances d'exposition environnementale, notamment sur les insecticides organochlorés et en particulier le DDE. La longue demi-vie dans l'organisme des organochlorés permet par la mesure de leur concentration dans une matrice biologique (sang, graisse) de disposer d'un bon indicateur de la charge corporelle et sur une période relativement longue. Plusieurs méta-analyses et revues de la littérature ont conclu qu'il n'existait pas de preuves suffisantes en faveur d'une association entre les niveaux de pesticides organochlorés, y compris le DDE, mesurés dans des matrices biologiques et le risque de survenue du cancer du sein (Snedeker, 2001 ; Calle et coll., 2002 ; Lopez-Cervantes et coll., 2004 ; Khanjani et coll., 2007). S'agissant des études, bien moins nombreuses et portant sur des pesticides autres que les organochlorés, elles ont employé comme indicateur d'exposition la distance de résidence à des zones d'épandages de pesticides (Reynolds et coll., 2005) ou les niveaux de contamination des eaux de consommation à de l'atrazine (McElroy et coll., 2007) et n'ont pas montré d'association avec le risque de cancer du sein.

Néanmoins, certaines études méritent d'être soulignées. Hoyer et coll. se sont intéressés au sein de la cohorte *Copenhagen City Heart Study* au Danemark à l'évolution de la maladie suite au diagnostic initial (Hoyer et coll., 2000). Au cours du suivi portant sur 195 cas incidents de cancer du

sein, les auteurs ont montré un excès de risque, à la limite de la signification statistique, de récidive de la maladie et/ou de décès par cancer du sein chez les femmes les plus exposées à la dieldrine, un insecticide organochloré (RR = 2,61 ; IC 95 % [0,97-7,01] pour le 4e quartile d'exposition le plus élevé comparé au 1er quartile le plus faible ; p de tendance < 0,01). Cependant, une étude ultérieure au sein de cette même cohorte n'a pas montré de lien entre l'exposition à plusieurs insecticides organochlorés, dont la dieldrine, et la survie des patientes en fonction du statut de la tumeur vis-à-vis des récepteurs aux œstrogènes (Hoyer et coll., 2001).

Une autre étude a porté son attention sur la période d'exposition critique. Cohn et coll. ont mené une étude cas-témoins nichée parmi les participantes à l'étude *Child Health and Development Studies* conduite en Californie aux États-Unis (Cohn et coll., 2007). Le DDT (isomères o,p' et p,p', ce dernier étant le plus abondant) ainsi que le DDE (isomère p,p') ont été dosés dans des prélèvements de sang, obtenus entre 1959 et 1967, chez des jeunes femmes (âge moyen de 26 ans) à l'occasion d'une de leurs grossesses. Cent vingt-neuf de ces femmes ayant eu un diagnostic de cancer du sein avant l'âge de 50 ans ont été comparées à 150 femmes de même âge et sans cancer du sein. Le DDT (isomère p,p'), dans un modèle ajusté aux autres organochlorés, a été retrouvé associé à un excès de risque de survenue de cancer du sein (OR = 2,9 ; IC 95 % [1,1-8,0] pour le 3e tercile comparé au 1er). En fonction de leur âge en 1945, date où l'emploi du DDT a été généralisé, un excès de risque a été observé chez celles qui avaient moins de 14 ans à cette date (et moins de 20 ans lorsque le DDT a atteint son maximum d'utilisation dans le monde au début des années 1950) (OR = 2,8 ; IC 95 % [1,1-6,8] et OR = 5,2 ; IC 95 % [1,4-9,1] respectivement pour les 2e et 3e terciles).

Bien que l'étude de Cohn et coll. ait soulevé l'importance de la période d'exposition, l'ensemble des études réalisées jusqu'en 2013 n'a, comme pour l'exposition professionnelle, pas permis de conclure sur le lien éventuel entre l'exposition des pesticides et le risque de survenue d'un cancer du sein dans des circonstances d'exposition environnementales.

Nouvelles données épidémiologiques

Expositions professionnelles

Dans le cadre de la cohorte AHS, trois nouvelles publications se sont intéressées au risque de survenue de cancer du sein parmi les conjointes d'agriculteurs, où les utilisatrices d'insecticides ont été comparées aux

non-utilisatrices (Lerro et coll., 2015 ; Engel et coll., 2017 ; Louis et coll., 2017). Lors d'un suivi portant sur 1 059 cas incidents, l'usage d'insecticides organophosphorés a été retrouvé associé à un risque augmenté de cancer du sein (RR = 1,20 ; IC 95 % [1,01-1,43]) (Lerro et coll., 2015). Une analyse par matière active a montré que seule l'utilisation du chlorpyrifos (parmi 8 organophosphorés étudiés) était associée, à la limite de la signification statistique, à un risque augmenté de cancer du sein (RR = 1,41 ; IC 95 % [1,00-1,99]). Une analyse plus approfondie de l'association avec le chlorpyrifos, en prenant en compte le statut des récepteurs hormonaux aux œstrogènes (*estrogen receptor* ; ER) ou à la progestérone (*progesterone receptor* ; PR), a mis en évidence une augmentation de risque l'association étant plus élevée en cas de tumeur ER-PR- (RR = 2,26 ; IC 95 % [1,07-4,75]) qu'en cas de tumeur ER+PR+ (RR = 1,37 ; IC 95 % [0,86-2,19]). Un risque augmenté, mais non statistiquement significatif, a été également constaté en cas d'utilisation de terbufos (RR = 1,52 ; IC 95 % [0,97-2,36]). Lors d'un suivi ultérieur portant sur 1 081 cas de cancers du sein, les auteurs ont rapporté des résultats similaires concernant le chlorpyrifos (HR = 1,4 ; IC 95 % [1,0-2,0]) et le terbufos (HR = 1,5 ; IC 95 % [1,0-2,1]) mais aussi un risque augmenté, non significatif, pour l'usage du coumaphos (HR = 1,5 ; IC 95 % [0,9-2,5]) (Engel et coll., 2017). Au cours d'une étude exclusivement consacrée aux insecticides organochlorés, aucune association n'a été retrouvée en lien avec l'utilisation de ces pesticides sauf pour la dieldrine (Louis et coll., 2017). En effet, parmi les insecticides organochlorés étudiés (8 au total), seul l'emploi de la dieldrine est apparu associé à un risque augmenté de cancer du sein, ce risque étant limité aux femmes porteuses d'une tumeur ER-PR- (RR = 3,55 ; IC 95 % [1,12-11,18]). À noter que ce résultat n'a été acquis qu'à partir de 3 cas présentant ces caractéristiques tumorales.

Une étude cas-témoins en population générale, dans 18 communes à forte activité agricole de la province de Vercelli (Italie), a comparé 85 cas incidents de cancer du sein à 6 300 témoins (Salerno et coll., 2016). L'activité professionnelle dans le secteur agricole a été retrouvée associée à un risque augmenté de survenue du cancer du sein (OR = 1,72 ; IC 95 % [1,04-2,85]). Cependant, en absence de toute information relative à l'usage de pesticides, aucune conclusion ne peut en être dérivée s'agissant de l'impact de ces derniers sur la survenue du cancer du sein.

En Californie, une étude cas-témoins a été réalisée chez des femmes hispaniques (101 cas *versus* 88 témoins) résidant dans la vallée de San Joaquin, une région à forte activité agricole (Mills et coll., 2019). Parmi celles ayant travaillé dans une exploitation agricole, et à l'aide d'une matrice emploi-exposition, celles ayant été exposées au parathion-méthyl présentaient un

excès de risque de survenue du cancer du sein mais limité au 2e tercile d'exposition (OR = 5,28 ; IC 95 % [1,17-23,7]).

Expositions environnementales

Dans une revue critique de la littérature, Alavanja et coll. concluent, sur la base des études disponibles à l'époque, à l'absence de preuves convaincantes d'un lien entre l'exposition à des pesticides organochlorés et la survenue du cancer du sein (Alavanja et coll., 2013). S'agissant des pesticides autres que les organochlorés, ces mêmes auteurs après examen des 8 études disponibles dans des circonstances d'exposition non professionnelles (conjointes d'agriculteurs non applicatrices de pesticides, résidence à proximité de zones agricoles) estiment que les études sont encore peu nombreuses et avec des informations peu spécifiques concernant les matières actives incriminées pour aboutir à des conclusions significatives dans un sens ou dans l'autre.

Deux nouvelles méta-analyses ont porté sur le risque de cancer du sein et les expositions environnementales au DDE estimées à partir des concentrations de ce polluant dans des matrices biologiques. Dans la méta-analyse de Park et coll. portant sur 35 études publiées jusqu'en août 2012, le mOR n'a pas montré d'excès de risque significatif (1,03 ; IC 95 % [0,95-1,12]) (Park et coll., 2014). Il en est de même pour la méta-analyse de Ingber et coll. portant sur 46 études publiées jusqu'en 2013 (mOR = 1,05 ; IC 95 % [0,93-1,18] pour le DDE et mOR = 1,02 ; IC 95 % [0,92-1,13] pour le DDT) (Ingber et coll., 2013).

En Australie, une étude cas-témoins en population générale (1 169 cas *versus* 1 743 témoins) s'est intéressée à l'association entre l'auto-déclaration d'avoir « remarqué » une dérive de pulvérisation de pesticides à l'occasion d'application de ces produits sur des terres agricoles (El-Zaemey et coll., 2013). Cette question a été adressée aux femmes ayant résidé pendant au moins un an à proximité (1 km ou moins) d'une zone d'activité agricole. Parmi les femmes qui ont déclaré « avoir déjà remarqué » une dérive de pulvérisation, les auteurs rapportent un excès de risque de survenue du cancer du sein (OR = 1,43 ; IC 95 % [1,15-1,78]), et en particulier parmi celles où cette constatation a été faite avant d'avoir atteint l'âge de 20 ans (OR = 1,61 ; IC 95 % [1,19,-2,16]). Cette étude n'apporte aucune information concernant les éventuels pesticides (familles chimiques ou matière active) concernés et repose sur une notion de dérive peu précise quant à l'exposition effective (par exemple, dérive perçue visuellement et/ou par l'odorat).

Une étude cas-témoins hospitalière (121 cas *versus* 621 témoins) n'a pas observé d'association entre le lieu de résidence à proximité d'une zone d'épandage de fongicides à usage agricole à l'Île-du-Prince-Édouard au Canada et le risque de survenue du cancer du sein (Ashley-Martin et coll., 2012). Une étude réalisée en Espagne et portant sur 425 cas incidents et 1 511 témoins a exploré le lien avec la proximité de leur domicile à des sites industriels (Garcia-Perez et coll., 2018). Une association positive a été retrouvée en lien avec la présence de sites industriels situés à moins de 2 km et libérant des pesticides (sans autre précision) (OR = 2,09 ; IC 95 % [1,14-3,82]). Au Brésil, une étude comprenant 85 cas incidents de cancers du sein et 266 témoins a rapporté un excès de risque de survenue de la maladie chez les femmes résidant à moins de 500 m d'une exploitation agricole ayant recours à des pesticides (OR = 2,37 ; IC 95 % [1,78-3,16]) (Silva et coll., 2019). Une étude réalisée chez 155 cas et 150 témoins en Californie (comtés de Fresno, Tulare et Kern) a employé comme indicateur d'exposition l'usage de pesticides agricoles dans un rayon inférieur à 500 m à leur lieu de résidence (Tayour et coll., 2019). Une association positive a été retrouvée avec l'usage du chlorpyrifos (OR = 3,22 ; IC 95 % [1,38-7,53]) alors qu'une absence d'association a été retrouvée pour l'usage d'organochlorés (sans autre précision), le diazinon (un insecticide organophosphoré) et le 1,3 dichloropropène (un nématicide).

Plusieurs autres études cas-témoins portant sur des faibles effectifs ont étudié le risque de survenue du cancer du sein en lien avec les concentrations sanguines en pesticides organochlorés. En Espagne, Boada et coll. en comparant 121 cas à 103 témoins ont rapporté, parmi 7 organochlorés explorés, une association positive, à la limite de la signification statistique, avec le DDD (un métabolite du DDT) (OR = 1,01 ; IC 95 % [1,00-1,02]) (Boada et coll., 2012). Au Groenland, Wielsøe et coll. ont rapporté des concentrations sanguines de DDE plus élevées chez 77 cas de cancer du sein que chez 84 témoins (Wielsøe et coll., 2017). Holmes et coll. en analysant 9 pesticides persistants dans le sang, n'ont pas trouvé d'associations avec le risque de survenue du cancer du sein dans une étude comparant 75 cas à 95 témoins en Alaska (Holmes et coll., 2014). En Tunisie, Arrebola et coll., en comparant les taux sériques de cinq organochlorés chez 69 cas à 56 témoins, ont mis en évidence une association entre une concentration élevée de β-hexachlorocyclohexane (OR = 1,18 ; IC 95 % [1,05-1,34]) et le risque de cancer du sein (Arrebola et coll., 2015). Dans une étude cas-témoins hospitalière (56 cas et 46 témoins) réalisée en Chine, He et coll. ont mesuré les concentrations de six pesticides organochlorés dans des prélèvements de tissus adipeux du sein (He et coll., 2017). Les auteurs concluent à une augmentation du risque de survenue de cancer du sein alors que les résultats montrent

l'inverse (OR = 0,129 ; IC 95 % [0,031-0,542] pour le DDE). Une étude réalisée au Pakistan chez 83 cas de cancers (incluant les cancers du sein) et 32 témoins a rapporté que la moyenne de la somme de la concentration sanguine de 14 pesticides organochlorés était plus élevée chez les cas de cancer du sein (nombre non précisé) que chez les témoins (Attaullah et coll., 2018).

Parada et coll. ont étudié aux États-Unis les associations entre l'exposition aux insecticides organochlorés DDT, DDE et chlordane chez 633 cas incidents de cancer du sein (invasifs ou *in situ*) sur la période 1996-1997 et leur survie (Parada Jr et coll., 2016). L'exposition a été estimée par la mesure de la concentration sanguine des pesticides à l'occasion du diagnostic. Après un suivi de 5 et 15 ans, 55 et 189 décès toutes causes confondues ont été constatés dont 36 et 74 attribuables au cancer du sein. À 5 ans, le tercile le plus élevé de la concentration en DDT était associé à un excès de décès toutes causes confondues (HR = 2,19 ; IC 95 % [1,02-4,67] ; p de tendance = 0,02) et à un excès de décès spécifique par cancer du sein (HR = 2,72 ; IC 95 % [1,04-7,13] ; p de tendance = 0,02). Cependant, à 15 ans, aucune association statistiquement significative n'a été observée. Les mêmes auteurs, en partant d'une autre population de cas incidents de cancers invasifs du sein (n = 748) au cours de la période 1993-1996 aux États-Unis, se sont également intéressés à la survie au terme d'un suivi médian de 20,6 années (Parada Jr et coll., 2019). L'exposition au DDT et au DDE a été estimée par la mesure de leur concentration sanguine à l'occasion du diagnostic. Au terme d'un suivi de 5 ans, ni le DDT ni le DDE n'ont été retrouvés associés à la mortalité toutes causes ou à la mortalité spécifique par cancer du sein. En revanche, au terme d'un suivi à 20 ans, le DDE (HR = 1,95 ; IC 95 % [1,31-2,92] pour le 3^{e} tercile comparé au 1er) et le DDT (HR = 1,64 ; IC 95 % [1,10-2,44] pour le quantile le plus élevé comparé au quantile avec des concentrations en dessous de la limite de détection) ont été retrouvés associés à un excès de risque de décès toutes causes confondues. S'agissant de la mortalité spécifique par cancer du sein après 20 ans de suivi, les concentrations en DDE supérieures à la médiane (groupe de référence : DDE en dessous de la médiane) ont été retrouvées associées à une augmentation de risque de décès (HR = 1,69 ; IC 95 % [1,06-2,68]). Le risque était plus élevé chez celles qui présentaient une tumeur ER- (HR = 3,24 ; IC 95 % [1,38-7,58]) comparé à celles qui présentaient une tumeur ER+ (HR = 1,29 ; IC 95 % [0,73-2,28]) avec une interaction significative (p = 0,03).

Cohn et coll. avaient dans une première étude publiée en 2007 montré l'importance que pourrait avoir la période critique d'exposition au DDT en lien avec le risque de survenue du cancer du sein (Cohn et coll., 2007).

Cette étude, réalisée au sein de la *Child Health and Development Studies*, s'était limitée à la survenue de ce cancer avant l'âge de 50 ans, c'est-à-dire avant la ménopause, l'exposition ayant été estimée par la mesure de la concentration plasmatique en DDT à l'occasion d'une de leurs grossesses (âge moyen de 26 ans). Les auteurs ont montré que les concentrations sanguines en DDT étaient associées à un excès de risque de survenue de cancer du sein, notamment chez celles qui avaient moins de 14 ans au début des années 1950 (correspondant au maximum d'utilisation du DDT dans le monde). Ces mêmes auteurs ont, dans une publication récente (Cohn et coll., 2019), étudié le risque de survenue du cancer du sein pendant la période de transition de la ménopause (50 à 54 ans). Un excès de risque a été observé (OR pour le doublement de la concentration en p,p' DDT = 1,99 ; IC 95 % [1,48-2,67]). Cependant, tenant compte de l'âge qu'elles avaient en 1945 (date où l'emploi du DDT a été généralisé), cet excès de risque n'était observé que chez celles qui avaient plus de 14 ans à cette date (OR pour le doublement de la concentration en p,p' DDT = 2,83 ; IC 95 % [1,96-4,10]).

Une autre étude s'est adressée au risque de cancer du sein chez les filles des femmes ayant participé à la cohorte *Child Health and Development Studies* entre 1959 et 1967 (Cohn et coll., 2015). Cent dix-huit cas de cancer du sein ont ainsi été comparés à 354 témoins appariés à l'âge de naissance. L'exposition maternelle pendant la grossesse au DDT (isomère o,p'), dans un modèle ajusté sur les autres organochlorés, était associée chez les filles à un excès de risque de survenue de cancer du sein (OR = 3,7 ; IC 95 % [1,5-9,0] pour le 4^{e} quartile ; p de tendance = 0,05).

Au sein de la cohorte *Sister Study* aux États-Unis, une étude s'est intéressée au risque de survenue du cancer du sein en lien avec l'exposition aux pesticides pendant l'enfance et l'adolescence (Niehoff et coll., 2016). Parmi les 50 756 femmes sans cancer du sein incluses au cours de la période 2003-2009, 2 134 ont développé un cancer du sein lors d'un suivi moyen de 5 ans à compter de leur date d'inclusion dans la cohorte. Les informations relatives aux expositions résidentielles et agricoles aux pesticides ont été recueillies par questionnaire à l'inclusion dans l'étude. Une attention particulière a été portée sur le parcours résidentiel avant l'âge de 14 ans ainsi que sur la nature de leur résidence au regard d'une activité agricole (exploitation agricole) et de l'usage de pesticides. Aucune association n'a été observée entre l'exposition aux pesticides dans l'enfance et l'adolescence (avant 14 ans) et le risque de survenue du cancer du sein, quel que soit le statut hormonal de la tumeur. Seules les femmes âgées de moins de 18 ans lors de l'interdiction du DDT aux États-Unis en 1972 présentaient un risque augmenté de cancer du sein, à la limite de la signification statistique (HR = 1,1 ; IC 95 % [0,99-1,30]).

Récemment, une étude cas-témoins menée dans la vallée de San Joaquin en Californie a mis en évidence une diminution de risque non significative de survenue du cancer du sein chez les femmes nées dans une exploitation agricole, ainsi que chez celles dont les parents travaillaient dans ces exploitations au moment de leur naissance (Mills et coll., 2019).

Cancer du sein chez l'homme

Chez l'homme, les seins demeurent immatures tout le long de la vie et n'assurent aucune fonction particulière. Ils peuvent être soumis à des pathologies bénignes, telles que la gynécomastie, correspondant à une hypertrophie accompagnée ou pas d'hyperplasie non fonctionnelle des cellules épithéliales des canaux galactophores. Dans des très rares cas, le sein est l'objet d'une transformation tumorale maligne. Il s'agit alors, comme chez la femme, d'adénocarcinomes qui se développent à partir des cellules épithéliales tapissant les canaux.

Le cancer du sein chez l'homme survient à partir de l'âge de 60 ans et son TIS-M est estimé à un peu moins de 1 pour 100 000 personnes-années et ce quel que soit le pays considéré (Contractor et coll., 2008). Il est admis que le cancer du sein chez l'homme correspond à la même entité pathologique que celle décrite chez la femme (Thomas, 1993). On y observe les mêmes types histologiques, l'expression des mêmes récepteurs hormonaux (aux œstrogènes notamment) et une fréquence élevée de mutations des gènes *BRCA1* ou *BRCA2* (Stalsberg et coll., 1993 ; Thomas, 1993). L'étiologie est inconnue mais il est bien établi que les entités nosologiques associées à des déséquilibres entre androgènes et œstrogènes, notamment le syndrome de Klinefelter, favorisent la survenue du cancer du sein (Fentiman, 2018). L'exposition à des radiations ionisantes est un facteur de risque unanimement reconnu. À l'inverse, le rôle des expositions à des champs électromagnétiques ou à la chaleur (foyers thermiques radiants) est encore débattu (Weiss et coll., 2005 ; Fentiman et coll., 2006 ; Ruddy et Winer, 2013). Il existe très peu d'études s'intéressant au rôle des pesticides dans la survenue du cancer du sein chez l'homme. Une cohorte historique suédoise comprenant 1 779 646 employés, entreprise en 1971 et ayant fait l'objet d'un suivi de 19 ans, n'a pu observer de lien entre des métiers exercés dans le secteur agricole et le risque de survenue du cancer du sein (Pollán et coll., 2001). Une étude portant sur 178 cas et 1 041 témoins aux États-Unis n'a pas montré d'associations entre l'exposition professionnelle aux herbicides ou à d'autres types de pesticides et le risque de survenue de la maladie (Cocco et coll., 1998). En Europe, une étude ayant comparé 104 cas à 1 901 témoins

n'a pas montré d'excès de risque chez les agriculteurs, qu'ils soient exploitants ou salariés (Villeneuve et coll., 2010). À ce jour, aucune étude portant sur des familles chimiques ou matière active et le risque de cancer du sein chez l'homme n'a été publiée. Cela n'est guère surprenant tenant compte de la rareté de la maladie. Pour autant, les quelques études réalisées à ce jour ne soutiennent pas un rôle important des pesticides dans la genèse du cancer du sein masculin.

Données mécanistiques

Les études épidémiologiques existantes ne permettent pas à l'heure actuelle de conclure sur la présomption d'un lien entre l'exposition à des pesticides considérés dans leur ensemble et une augmentation du risque de cancer du sein mais elles rapportent des signaux pour certains organochlorés, tels que la dieldrine ou le DDT/DDE ou des organophosphorés (chlorpyrifos...). Afin d'éclairer l'implication potentielle de ces substances, une recherche bibliographique a été menée sur les mécanismes biologiques moyennant lesquels elles pourraient favoriser la survenue du cancer du sein. Certains de ces pesticides sont interdits d'utilisation en Europe (par exemple, la dieldrine ou le DDT, non autorisés depuis 1978), mais ils sont persistants dans l'environnement, imprègnent la plupart des populations et restent donc une préoccupation pour la santé publique. Cette recherche bibliographique a été élargie à des pesticides pour lesquels on ne dispose pas de données épidémiologiques mais dont la littérature rapporte des propriétés hormonales (perturbateurs endocriniens) et cancérigènes susceptibles d'avoir un rôle dans la survenue du cancer du sein : les insecticides néonicotinoïdes (notamment le thiaclopride)[52] et l'herbicide glyphosate (voir chapitre « Glyphosate et formulations à base de glyphosate »).

Dieldrine, DDT et autres pesticides organochlorés

Certaines études épidémiologiques ont souligné la présence d'une association entre l'exposition à certains organochlorés, comme le DDT ou la dieldrine, et la survenue du cancer du sein. Ses effets biologiques sont donc décrits plus

52. Le thiaclopride fait l'objet d'une classification harmonisée au niveau européen comme substance « susceptible de provoquer le cancer » (Carc 2/H351). Ce composé et d'autres pesticides néonicotinoïdes ont fait l'objet d'un avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) relatif à « l'impact sur la santé humaine des substances néonicotinoïdes autorisées dans les produits phytopharmaceutiques et les produits biocides ». Saisine n° 2016-SA-0104. 2016. 45 p (https://www.anses.fr/fr/system/files/BIOC2016SA0104.pdf [consulté le 5 mai 2020]).

spécifiquement ci-après (figure 13.1) avec parfois d'autres organochlorés présentant des propriétés similaires (ou parfois opposées) sur le plan mécanistique.

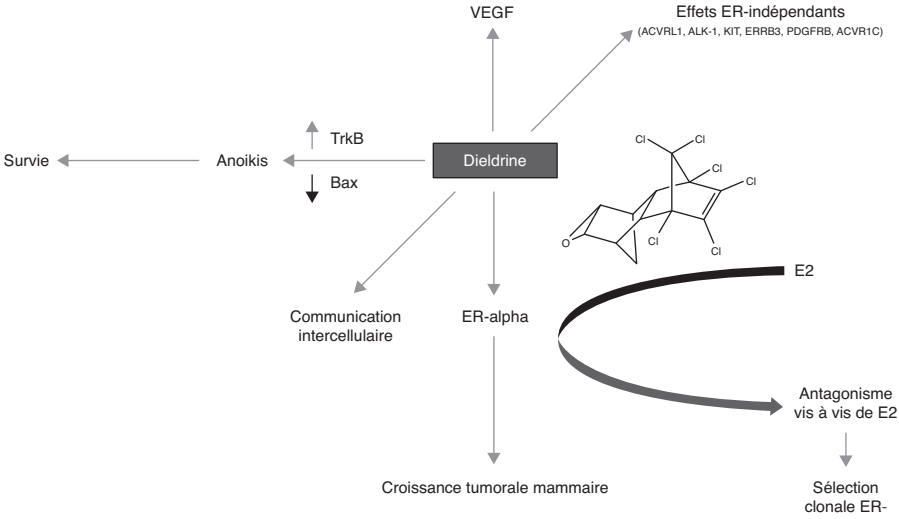


Figure 13.1 : Résumé des effets de la dieldrine en lien avec un effet susceptible de favoriser la survenue du cancer du sein

Environ deux tiers des cas de cancer du sein sont hormono-dépendants, c'est-à-dire qu'ils sont sensibles aux œstrogènes ou à la progestérone. Les cellules cancéreuses expriment des récepteurs aux œstrogènes (ER) et/ou de la progestérone qui régulent la prolifération cellulaire, et le statut ER+ ou ER– conditionne le pronostic et donc le choix des traitements. De ce fait, de nombreuses études de toxicologie expérimentale portant sur le rôle des pesticides dans l'initiation ou la promotion du cancer du sein se sont intéressées au potentiel d'activation des récepteurs hormonaux, et en particulier de l'ERα (*estrogen receptor alpha*). L'action des pesticides qui affectent le système œstrogénique (c'est-à-dire qui ont des effets de perturbateurs endocriniens), ne concerne pas que les récepteurs mais également d'autres étapes comme la production des hormones.

De nombreuses études ont porté sur le potentiel œstrogénique des organochlorés ; ainsi, en 1994, un article montre que le toxaphène (mélange complexe de molécules chlorées), la dieldrine et l'endosulfan ont des propriétés similaires à celles du DDT et du chlordécone, molécules proœstrogéniques mais présentant des affinités très inférieures à celles de l'œstradiol (Soto et coll., 1994). Ces effets sont souvent étudiés en utilisant *in vitro* le modèle MCF-7, cellule tumorale mammaire humaine exprimant le ERα

dont la croissance est dépendante d'un stimulus œstrogénique (Verma et coll., 1997 ; Arcaro et coll., 1998 ; Charles et coll., 2002 ; Rasmussen et Nielsen, 2002 ; Aube et coll., 2011) ou *in vivo* un modèle de croissance utérine chez les rongeurs (très sensible à l'imprégnation œstrogénique) (Ramamoorthy et coll., 1997 ; Wade et coll., 1997). Les effets pro-œstrogéniques observés dans les cellules MCF-7 ont été confirmés dans d'autres lignées tumorales mammaires humaines ER+ comme les T47D (Legler et coll., 1999). Les organochlorés ont en général des effets pro-œstrogéniques pour des concentrations supérieures à 1 µM (c'est-à-dire relativement élevées) (Andersen et coll., 2002). Toutefois, le toxaphène peut être décrit comme faiblement anti-œstrogénique car il peut réduire la formation de « foci » de cellules MCF-7 en présence d'œstradiol. Toutefois, il ne semble pas en mesure de lier le récepteur ERα, il semblerait donc important de confirmer ce dernier résultat et d'apporter des éléments mécanistiques pour expliquer la réduction du nombre de foci, précédemment décrite (Arcaro et coll., 2000).

Une étude plus récente a utilisé des lignées tumorales HeLa exprimant de manière stable ERα ou ERβ ainsi qu'un gène rapporteur pour mesurer l'activation des récepteurs œstrogéniques par une cinquantaine de pesticides, dont 14 organochlorés (Lemaire et coll., 2006). Un traitement pendant 16 h avec les agents à une concentration de 10 µM provoque l'activation de l'ERα et de l'ERβ pour cinq des organochlorés testés ; chlordane, o,p'-DDT (seul et en mélange avec le p,p'-DDT), *trans*-nonachlore, toxaphène. Cinq des pesticides organochlorés activaient l'ERα uniquement ; chlordécone, dieldrine, endosulfan, endrine, méthoxychlore. Un effet de compétition avec l'œstradiol (ou antagonisme des organochlorés vis-à-vis de l'œstradiol et du ERα) a été montré pour le chlordécone, le méthoxychlore, l'endosulfan, l'endrine, la dieldrine et l'aldrine. On peut ainsi noter que la dieldrine active l'ERα (considéré comme pro-tumoral car favorisant la prolifération) et pas l'ERβ (souvent associé à un bon pronostic après analyse histologique de tumeurs mammaires).

D'autres mécanismes d'action ont toutefois été décrits. Ainsi, une des conséquences de l'exposition aux organochlorés est une perturbation de la communication intercellulaire par jonction lacunaire. Le traitement des cellules mammaires non tumorales avec la dieldrine inhibe la communication intercellulaire après 30 minutes et l'effet persiste pendant 24 h, tandis que pour le DDT et le toxaphène une inhibition réversible est observée après 90 minutes (Kang et coll., 1996). La rapidité de ces effets, qui ont été constatés à des concentrations relativement élevées, suggère l'activation de voies de signalisation non transcriptionnelles. De même, Cameron et Foster montrent que la dieldrine bloque l'apoptose de cellules MDA-MB-231

induite par leur détachement du support de culture (anoïkis[53]). Les doses utilisées (0,5-10 µM ou 0,2-3,8 ppm) ont été sélectionnées sur la base d'une modélisation simple en comparaison des concentrations retrouvées dans le tissu mammaire (épithélium et adipocytes, 0,17-0,90 ppm). La résistance à l'anoïkis est observée à partir de 5 µM et est associée avec une diminution de l'expression de l'effecteur pro-apoptotique Bax (Cameron et Foster, 2008). L'effet est bloqué par un antagoniste du récepteur tyrosine kinase TrkB, dont l'expression est aussi augmentée *in vivo* dans un modèle murin de tumorigenèse mammaire (Cameron et Foster, 2009). Cette action de la dieldrine sur un récepteur tyrosine kinase est à mettre en parallèle de celle observée par Buteau-Lozano et coll. qui montrent une augmentation de sécrétion et production de VEGF (facteur clé intervenant dans l'angiogenèse) dans une lignée dérivée des cellules MCF-7 (Buteau-Lozano et coll., 2008).

D'autres gènes cibles potentiels des organochlorés ont d'ailleurs été caractérisés à l'aide d'une lignée primaire de cellules mammaires humaines (Valerón et coll., 2009). Le traitement avec un mélange de plusieurs organochlorés (p,p'-DDD ; p,p'-DDE ; o,p'-DDE ; aldrine ; dieldrine) conduit à une augmentation de l'expression de plusieurs gènes (sur 94 testés) dont *ACVRL1* (inhibition de l'angiogenèse), *KIT* et *ERBB3* (récepteurs dont l'activation conduit à une prolifération cellulaire), *PDGFRB* (récepteur pro-angiogénique) et *ACVR1C* (récepteur apparenté à ceux activés par le TGF-β), aucun d'entre eux n'étant stimulé par l'œstradiol. Les organochlorés ont été testés à des concentrations 100 fois supérieures à celles constatées dans le sérum d'une population générale espagnole (Îles Canaries). De telles concentrations sont pertinentes dans la mesure où il est assumé pour de nombreux organochlorés que leurs concentrations dans les tissus adipeux sont 100 fois supérieures à celles mesurées dans le sérum. Cette étude suggère l'existence de mécanismes stimulés par les organochlorés autres que les récepteurs aux œstrogènes dans les cellules mammaires.

Une revue récente sur les propriétés carcinogéniques de la dieldrine a souligné que les études épidémiologiques sont contrastées et comportent des biais méthodologiques liés au défaut de caractérisation de l'exposition directe au pesticide (Stern, 2014). Néanmoins, l'article soulève un point intéressant concernant le statut des tumeurs vis-à-vis de l'expression du ERα, suggérant

53. L'anoïkis, du grec ancien « sans domicile fixe », représente un mode d'élimination physiologique des cellules par un mécanisme d'apoptose consécutif à une rupture des communications entre une cellule et son environnement. D'abord décrite pour des cellules épithéliales, cette apoptose par détachement a été identifiée depuis dans d'autres types cellulaires, épithéliaux ou mésenchymateux. Alors qu'un excès de mort par anoïkis observé dans un contexte protéolytique (dans lequel les communications cellules-matrice extracellulaire sont rompues) participe aux maladies dégénératives, à l'inverse, une résistance marquée au phénomène d'anoïkis permet aux cellules cancéreuses de se disséminer (d'après Meilhac et Michel, 2005).

que la dieldrine soit plutôt associée aux cancers ER– (et ainsi un mode d'action non œstrogénique). Ces éléments doivent être interprétés avec prudence car ils peuvent avoir une dimension temporelle ; on pourrait ainsi poser l'hypothèse que l'antagonisme de la dieldrine vis-à-vis de l'œstradiol par compétition sur le même site de liaison sur le ERα, favorise lors de la sélection clonale, les cellules tumorales pouvant se multiplier sans dépendance du ERα.

Chlorpyrifos

Des études épidémiologiques issues de la cohorte AHS ont montré que l'exposition au chlorpyrifos (CPF) chez les femmes agricultrices ou conjointes d'agriculteurs était associée, à la limite de la signification statistique, à un excès de risque de survenue du cancer du sein. Existe-t-il des données mécanistiques qui peuvent renforcer la plausibilité de l'association observée ?

Une étude *in vitro* a évalué la capacité d'une vingtaine de pesticides, dont le chlorpyrifos, à provoquer l'activation du récepteur ERα et de stimuler la prolifération d'une lignée de cellules humaines mammaires tumorales (MCF-7), mais ce dernier n'a pas montré d'effets sur la prolifération cellulaire (Vinggaard et coll., 1999). Des expérimentations plus récentes vont dans ce sens et ne démontrent que de très faibles effets cytotoxiques, prolifératifs et de la stimulation de l'ER sur cette même lignée de cellules à des doses élevées ($\geq$ 50 µM) (Andersen et coll., 2002).

Ventura et coll. ont comparé l'effet du CPF sur les lignées MCF-7 et MDA-MB-231 en utilisant une plus large gamme de concentration. Une légère diminution de la prolifération associée à un blocage d'un des points de contrôle du cycle cellulaire a été observée à 50 µM (Ventura et coll., 2012), un effet cytotoxique a également été démontré par Rich et coll. sur les cellules MCF-7 traitées avec le CPF à 10 µM (Rich et coll., 2012). Ces résultats ont été confirmés dans une étude subséquente par Ventura et coll. qui montrent que ce blocage est lié à une altération des défenses anti-oxydantes (toujours à 50 µM) avec une phosphorylation de ERK1/2 provoquée par les espèces réactives de l'oxygène (H_2O_2) (Ventura et coll., 2015). Considérées dans leur ensemble, ces données vont dans le sens d'une absence d'effet (ou d'un faible effet) du CPF à forte dose (figure 13.2).

Toutefois, l'un des effets les plus intéressants est observé dans une de ces études : celle utilisant une large gamme de concentration et pour la très faible dose de 50 nM (selon un traitement d'une durée de 10 jours). À cette concentration (1 000 x plus faible que celle pour laquelle un blocage des points de contrôle du cycle est observé), une augmentation de la prolifération est observée (de 46 %), phénomène bloqué par un antagoniste du ERα ainsi

qu'une phosphorylation de la tyrosine 537 du récepteur et une augmentation de l'expression des cyclines D1 et E, qui permettent l'avancement du cycle cellulaire (Ventura et coll., 2012). Sur de plus courtes périodes de traitement et à des doses encore plus faibles (10 nM, 48 h), cet effet n'est pas observé (Rich et coll., 2012) soulignant que cet effet pro-œstrogénique du CPF serait observé à de faibles doses mais aussi sur de longues périodes d'exposition.

Ces effets de perturbation œstrogénique, possiblement non liée à une liaison directe du CPF au ERα mais plutôt à des modifications post-traductionnelles comme une phosphorylation du récepteur, sont aussi observés *in vivo*. L'exposition de rates Wistar au CPF (0,1 ou 2,5 mg/kg/j pendant 8 semaines par gavage) conduit à une perturbation du cycle ovarien caractérisé par un prolongement du métoestrus (période correspondant au début de la maturation de l'endomètre et à la synthèse de progestérone) et des anomalies histologiques de la glande mammaire, de l'utérus et de l'ovaire (suggérant des effets pro-œstrogéniques) (Nishi et Hundal, 2013). Une exposition à des doses encore plus faibles (0,01 et 1 mg/kg pc/j pendant une période doublée de 100 jours) de rates Sprague-Dawley adultes, révèle également une perturbation de l'architecture de la glande mammaire, des hyperplasies et au niveau moléculaire, une expression augmentée du récepteur de la progestérone et du marqueur de prolifération PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*) et, à l'inverse, une réduction de l'expression de corépresseurs des récepteurs des œstrogènes. Les concentrations sériques de l'œstradiol, de la progestérone et de l'hormone lutéinisante (LH) sont diminuées (Ventura et coll., 2016). Les mêmes auteurs ont étudié l'effet de l'exposition chronique au CPF (aux mêmes doses que précédemment ; 0,01 et 1 mg/kg pc/j) sur l'incidence de tumeurs induites par le N-nitroso-N-méthylurée ; les deux doses de CPF provoquent une réduction de la période de latence tumorale (Ventura et coll., 2019).

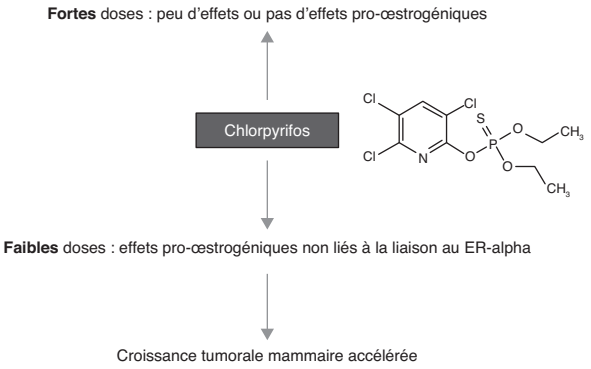


Figure 13.2 : Résumé des effets du chlorpyrifos en lien avec un effet susceptible de favoriser la survenue du cancer du sein

Néonicotinoïdes

La majorité des cas du cancer du sein sont caractérisés par une surexpression de l'aromatase, l'enzyme catalysant la conversion des androgènes en œstrogènes, ce qui a pour effet de stimuler la prolifération de cellules tumorales œstrogéno-dépendantes (Zhao et coll., 2016). En 2016, Caron-Baudoin et coll., partant du fait que certains pesticides comme l'atrazine (interdite au sein de l'UE en 2003) sont des activateurs de l'expression de l'aromatase, ont évalué les effets de trois pesticides de la famille des néonicotinoïdes sur ce système (Caron-Beaudoin et coll., 2016). L'imidaclopride, le thiaclopride, et le thiaméthoxame ont été testés à des concentrations entre 0,1 et 10 µM sur une lignée cellulaire humaine de carcinome surrénalien (H295R) et une lignée de cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVEC). Les résultats sont intéressants à plus d'un titre (figure 13.3). Le thiaclopride et le thiaméthoxame présentent un profil activant l'expression de l'aromatase (pour l'un de ses promoteurs), tandis que l'imidaclopride a un effet inhibiteur sur les cellules H295R. Les effets sont de nature non-monotone dans ces mêmes cellules, avec une activation significative (12,7x) de l'aromatase par le thiaclopride à 0,3 µM ou par le thiaméthoxame à 0,1 µM (12,2x ou 15,7x en fonction du promoteur considéré) qui n'est plus ou très faiblement observée à des doses plus élevées. Les auteurs renforcent leur démonstration par la mesure de la viabilité cellulaire qui est inchangée à toutes les doses évaluées. La diminution observée avec le traitement à l'imidaclopride (3 µM) n'est plus constatée aux doses supérieures. Ces effets sont cellule-spécifiques car non observés dans les expériences sur les HUVEC. La mesure d'activité de l'enzyme aromatase dans les cellules H295R, suit les profils d'expression, détaillés ci-dessus.

Le même groupe a analysé les effets de ces mêmes substances actives sur les cellules H295R dans un contexte de co-culture avec des cellules placentaires BeWo (choriocarcinome ou modèle de trophoblaste). En présence de chacun des trois néonicotinoïdes, l'activité aromatase n'augmente pas dans les cellules BeWo, tandis que l'enzyme est activée à des doses relativement faibles dans les cellules H295R (par exemple pour le thiaclopride dès 0,1 µM). Cette augmentation est associée à une stimulation de la production d'œstradiol et d'œstrone, mais pas d'œstriol qui diminue fortement probablement en lien avec une augmentation d'expression du cytochrome P450 3A7 qui métaboliserait les pesticides au lieu de produire un précurseur de cette hormone (Caron-Beaudoin et coll., 2017).

Enfin, une augmentation de l'expression et de l'activité de l'aromatase a aussi été montrée dans les cellules tumorales mammaires Hs578t, toujours selon des courbes dose-réponse non monotones pour le thiaclopride (activation à

partir de 0,1 µM effet maximum à 0,3 µM) et l'imidaclopride (activation à partir de 0,1 µM, effet maximum à cette même concentration) (Caron-Beaudoin et coll., 2018). Les auteurs ont utilisé des inhibiteurs pharmacologiques de voies de signalisation afin d'éclairer les mécanismes potentiellement impliqués : les deux néonicotinoïdes utilisés stimuleraient la voie de la phospholipase (le thiaclopride stimulant également la voie MEK/MAPK 1/3 qui, indépendamment de son effet sur la transcription de l'aromatase, stimulerait la prolifération cellulaire). Cette description est importante car l'une des voies les plus étudiées en première intention pour tester un effet pro-tumoral dans le contexte du cancer du sein est celle des récepteurs aux œstrogènes (l'isoforme ERα jouant un rôle pro-prolifératif). Or, Mesnage et coll. ont récemment évalué le potentiel œstrogénique de sept néonicotinoïdes les plus utilisés à travers un test de prolifération des cellules MCF-7 qui a démontré qu'aucun d'entre eux n'activait le ERα (de même pour le récepteur aux hormones thyroïdiennes sur des cellules GH3) (Mesnage et coll., 2018).

La démonstration d'un effet stimulateur de l'expression de l'aromatase par les néonicotinoïdes suggère donc que la concentration locale d'œstrogènes pourrait augmenter à de faibles doses (effet non observé à de plus faibles doses, courbes non monotones) d'exposition à ces pesticides dans certains types cellulaires dont la cellule tumorale mammaire, stimulant ainsi les voies œstrogéniques et la prolifération de clones tumoraux (sans effet direct des néonicotinoïdes sur le ERα).

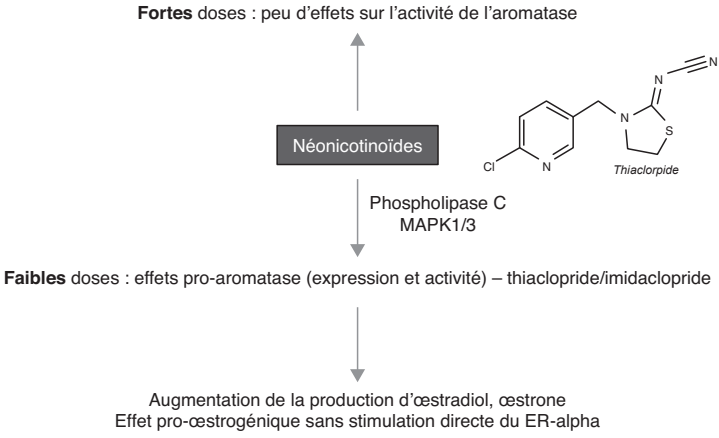


Figure 13.3 : Résumé des effets de néonicotinoïdes en lien avec un effet susceptible de favoriser la survenue du cancer du sein

Glyphosate

Les données mécanistiques détaillées dans le chapitre « Glyphosate et formulations à base de glyphosate » de la présente expertise collective montrent que le glyphosate et les formulations à base de glyphosate (*glyphosate-based herbicides* ; GBH) pourraient exercer des effets génotoxiques mais apparemment non mutagènes (figure 13.4). Ceci va dans le sens d'une absence d'effet initiateur du glyphosate. Toutefois, associé à un agent initiateur, il pourrait exercer un effet promoteur à des doses plus faibles que celles préalablement testées ; celui-ci reposerait sur divers mécanismes d'action qui rentrent également dans le cadre de la perturbation endocrinienne.

Le glyphosate a des effets pro-œstrogéniques à des concentrations inférieures à 1 µM (Lin et Garry, 2000 ; Hokanson et coll., 2007 ; Mesnage et coll., 2017), voire de l'ordre de 10^{-11} M, ce qui suggère que l'effet est médié par le ERα (Thongprakaisang et coll., 2013 ; Sritana et coll., 2018). Cet effet « faible dose » est à opposer à ceux observés par exemple par Li et coll. qui montrent que des concentrations de glyphosate comprises entre 15 et 50 mM bloquent la croissance de certaines lignées cancéreuses (Li et coll., 2013). Ceci est aussi observé avec l'AMPA, son produit de dégradation (Parajuli et coll., 2015 ; Parajuli et coll., 2016). Des processus apoptotiques sont stimulés à ces fortes doses, par exemple par l'AMPA dès 50 mM (Li et coll., 2013). Dans le contexte d'une exposition au glyphosate à des concentrations pertinentes sur le plan environnemental (de l'ordre de 1 µM à 1 pM), une liaison du glyphosate au ERα n'a pas été mise en évidence à ce jour (EPA, 2015). En revanche, Mesnage et coll. suggèrent une activation de ce récepteur par d'autres mécanismes (par exemple, activation de kinases et phosphorylation du ERα) (Mesnage et coll., 2017). Dans cette étude utilisant de nombreuses techniques, les auteurs montrent ainsi que le glyphosate active la protéine kinase A qui phosphoryle et active le ERα en l'absence d'un de ses ligands. Par ailleurs, une étude de transcriptomique menée sur des lignées cancéreuses mammaires ER+ et ER– montre que le GBH Roundup (à faibles concentrations sur de courtes durées d'exposition) et l'AMPA affectent des fonctions telles que la régulation du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'intégrité mitochondriale (Stur et coll., 2019).

Une perturbation de la stéroïdogenèse est observée dans plusieurs études (Walsh et coll., 2000 ; Romano et coll., 2012 ; Owagboriaye et coll., 2017). Cet effet peut être constaté avec du Roundup et pas du glyphosate, soulignant la plus forte toxicité des formulations (Walsh et coll., 2000 ; Romano et coll., 2012). Cet effet pourrait impacter indirectement la glande mammaire qui est sensible aux stéroïdes. Le cas de l'aromatase est intéressant car son inhibition par le Roundup suggère une baisse de la concentration locale

d'œstrogènes (Defarge et coll., 2016) expliquant la perturbation du développement de la glande mammaire constatée dans certaines études chez les rongeurs (Gomez et coll., 2019). Cet effet est toutefois sujet à controverse (Altamirano et coll., 2018). Ces effets sont transposables à d'autres organes comme l'utérus au niveau duquel un effet prolifératif est constaté à certains stades précoces (mais pas tardifs) ; les GBH pourraient ainsi en fonction du stade de développement activer ou inhiber les voies ER (Guerrero Schimpf et coll., 2017). Les mêmes auteurs suggèrent qu'une exposition précoce au GBH augmente la sensibilité de l'utérus à l'œstradiol (Guerrero Schimpf et coll., 2018). Ces résultats, pris dans leur ensemble, vont dans le sens d'une activité de perturbation endocrinienne du glyphosate, mais ces effets demeurent complexes car il peut présenter des propriétés anti-œstrogénique de par son action sur l'aromatase et pro-œstrogénique de par l'hypersensibilisation à l'action de l'œstradiol.

Finalement, des effets épigénétiques transgénérationnels sont aussi suspectés et peuvent toucher des acteurs des voies de signalisation évoqués précédemment. Une exposition de rates gravides à 350 mg/kg pc/j de GBH et un suivi des femelles F1 a mis en évidence une diminution de la méthylation du promoteur ERα (ainsi que des modifications post-traductionnelles des histones) associée à une augmentation du niveau de son ARN messager (Lorenz et coll., 2019). Ceci pourrait conduire à une augmentation de la sensibilité de certains organes vis-à-vis des œstrogènes, un phénomène déjà constaté dans d'autres contextes et qu'il serait intéressant d'étudier dans la glande mammaire.

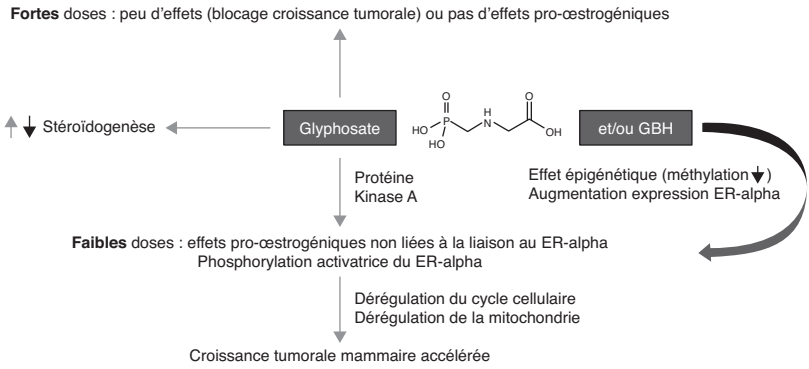


Figure 13.4 : Résumé des effets du glyphosate en lien avec un effet susceptible de favoriser la survenue du cancer du sein

Conclusion

Les études épidémiologiques publiées ces dernières années, prises dans leur ensemble, n'apportent pas d'éléments supplémentaires permettant de réviser les conclusions de la précédente expertise collective de l'Inserm selon laquelle il n'est pas possible d'établir de liens convaincants entre l'exposition professionnelle ou environnementale à des pesticides et la survenue du cancer du sein. Néanmoins, de nouveaux travaux issus de la cohorte AHS ont montré que l'exposition professionnelle à des insecticides organophosphorés, notamment le chlorpyrifos, et dans une moindre mesure le terbufos et le coumaphos, pourraient être associés à un risque augmenté de cancer du sein. Ces associations, à la limite de la signification statistique, mériteraient d'être confirmées par des études complémentaires.

L'immense majorité des études épidémiologiques conduites à ce jour a porté sur des périodes d'exposition à l'âge adulte. Cependant, la possibilité d'une période d'exposition critique à un plus jeune âge (moins de 20 ans), évoquée dès 2007 par Cohn et coll. est toujours d'actualité notamment pour ce qui concerne l'insecticide DDT. En effet, des publications récentes ont continué à pointer l'influence d'une exposition pendant la grossesse ou à un âge précédent ou juste après la puberté dans la survenue d'un cancer du sein avant la ménopause ou pendant la période de transition de la ménopause. Il est à noter que dans ces études, ces périodes d'âge d'exposition coïncident avec les années où l'utilisation du DDT dans le monde était très élevée. Restent donc deux questions en suspens. Est-ce que ces périodes d'exposition critique le sont toujours de nos jours dans la mesure où les niveaux d'exposition au DDT (ou à ses métabolites environnementaux tels que le DDE) ont fortement diminué ? Est-ce que ces périodes d'exposition seraient également critiques au regard d'autres pesticides ? Le manque d'études ne permet malheureusement pas d'y répondre.

S'agissant des aspects mécanistiques issus d'études expérimentales, le DDT comme la plupart des organochlorés ont un potentiel œstrogénique démontré à la fois *in vitro* et *in vivo*. Or, les cellules cancéreuses mammaires exprimant le récepteur aux œstrogènes alpha, ont une prolifération stimulée en cas de liaison d'agonistes à cette protéine. D'autres mécanismes stimulés par les organochlorés autres que ceux passant par les récepteurs aux œstrogènes ont été par ailleurs décrits dans les cellules mammaires (altération des communications cellulaires, résistance à l'apoptose...). Cela confère une certaine plausibilité biologique aux études épidémiologiques portant sur des fenêtres d'exposition à un âge précoce de la vie.

Pour ce qui concerne les insecticides organophosphorés, notamment le chlorpyrifos, les études mécanistiques divergent en fonction des doses employées. À de fortes doses, aucun ou de faibles effets œstrogéniques sont constatés. À l'inverse, à de faibles doses des effets pro-œstrogéniques sont constatés par des mécanismes impliquant une stimulation du ERα mais sans liaison directe au récepteur et plutôt par des modifications post-traductionnelles. Ces éléments, susceptibles d'apporter de la plausibilité biologique aux associations observées dans les rares études épidémiologiques concernant le chlorpyrifos, sont encore peu nombreux et mériteraient d'être investigués plus en détail.

Des travaux expérimentaux ont été également réalisés sur d'autres substances (néonicotinoïdes et glyphosate) sans que l'on puisse pour l'instant aboutir à de réelles conclusions en l'absence de données épidémiologiques.

Références

• Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

Alavanja MCR, Ross MK, Bonner MR. Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. *CA Cancer J Clin* 2013 ; 63 : 120-42.

Altamirano GA, Delconte MB, Gomez AL, *et al.* Postnatal exposure to a glyphosate-based herbicide modifies mammary gland growth and development in Wistar male rats. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 111-8.

Andersen HR, Vinggaard AM, Rasmussen TH, *et al.* Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002 ; 179 : 1-12.

Arcaro KF, Yang Y, Vakharia DD, *et al.* Toxaphene is antiestrogenic in a human breast-cancer cell assay. *J Toxicol Environ Health A* 2000 ; 59 : 197-210.

Arcaro KF, Vakharia DD, Yang Y, *et al.* Lack of synergy by mixtures of weakly estrogenic hydroxylated polychlorinated biphenyls and pesticides. *Environ Health Perspect* 1998 ; 106 Suppl 4 : 1041-6.

Arrebola JP, Belhassen H, Artacho-Cordón F, *et al.* Risk of female breast cancer and serum concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls: a case-control study in Tunisia. *Sci Total Environ* 2015 ; 520 : 106-13.

Ashley-Martin J, VanLeeuwen J, Cribb A, *et al.* Breast cancer risk, fungicide exposure and CYP1A1*2A gene-environment interactions in a province-wide case control study in Prince Edward Island, Canada. *Int J Environ Res Public Health* 2012 ; 9 : 1846-58.

Attaullah M, Yousuf MJ, Shaukat S, *et al.* Serum organochlorine pesticides residues and risk of cancer: A case-control study. *Saudi J Biol Sci* 2018 ; 25 : 1284-90.

Aube M, Larochelle C, Ayotte P. Differential effects of a complex organochlorine mixture on the proliferation of breast cancer cell lines. *Environ Res* 2011 ; 111 : 337-47.

Band PR, Le ND, Fang R, *et al*. Identification of occupational cancer risks in British Columbia. A population-based case-control study of 995 incident breast cancer cases by menopausal status, controlling for confounding factors. *J Occup Environ Med* 2000 ; 42 : 284-310.

Ban KA, Godellas CV. Epidemiology of breast cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2014 ; 23 : 409-22.

Boada LD, Zumbado M, Henriquez-Hernandez LA, *et al*. Complex organochlorine pesticide mixtures as determinant factor for breast cancer risk: a population-based case-control study in the Canary Islands (Spain). *Environ Health* 2012 ; 11 : 28.

Buteau-Lozano H, Velasco G, Cristofari M, *et al*. Xenoestrogens modulate vascular endothelial growth factor secretion in breast cancer cells through an estrogen receptor-dependent mechanism. *J Endocrinol* 2008 ; 196 : 399-412.

Calle EE, Frumkin H, Henley SJ, *et al*. Organochlorines and breast cancer risk. *CA Cancer J Clin* 2002 ; 52 : 301-9.

Cameron HL, Foster WG. Developmental and lactational exposure to dieldrin alters mammary tumorigenesis in Her2/neu transgenic mice. *PLoS One* 2009 ; 4 : e4303.

Cameron HL, Foster WG. Dieldrin promotes resistance to anoikis in breast cancer cells in vitro. *Reprod Toxicol* 2008 ; 25 : 256-62.

Caron-Beaudoin E, Viau R, Sanderson JT. Effects of neonicotinoid pesticides on promoter-specific aromatase (CYP19) expression in Hs578t breast cancer cells and the role of the VEGF pathway. *Environ Health Perspect* 2018 ; 126 : 47014.

Caron-Beaudoin E, Viau R, Hudon-Thibeault A-A, *et al*. The use of a unique co-culture model of fetoplacental steroidogenesis as a screening tool for endocrine disruptors: The effects of neonicotinoids on aromatase activity and hormone production. *Toxicol Appl Pharmacol* 2017 ; 332 : 15-24.

Caron-Beaudoin E, Denison MS, Sanderson JT. Effects of neonicotinoids on promoter-specific expression and activity of aromatase (CYP19) in human adrenocortical carcinoma (H295R) and primary umbilical vein endothelial (HUVEC) Cells. *Toxicol Sci* 2016 ; 149 : 134-44.

Charles GD, Gennings C, Zacharewski TR, *et al*. Assessment of interactions of diverse ternary mixtures in an estrogen receptor-alpha reporter assay. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002 ; 180 : 11-21. •

Cocco P, Figgs L, Dosemeci M, *et al*. Case-control study of occupational exposures and male breast cancer. *Occup Environ Med* 1998 ; 55 : 599-604.

Cohn BA, Cirillo PM, Terry MB. DDT and breast cancer: prospective study of induction time and susceptibility windows. *J Natl Cancer Inst* 2019 ; 111 : 803-10.

Cohn BA, La Merrill M, Krigbaum NY, *et al*. DDT Exposure in utero and breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2015 ; 100 : 2865-72.

Cohn BA, Wolff MS, Cirillo PM, *et al*. DDT and breast cancer in young women: new data on the significance of age at exposure. *Environ Health Perspect* 2007 ; 115 : 1406-14.

Colditz GA, Bohlke K. Priorities for the primary prevention of breast cancer. *CA Cancer J Clin* 2014 ; 64 : 186-94.

Contractor KB, Kaur K, Rodrigues GS, *et al*. Male breast cancer: is the scenario changing. *World J Surg Oncol* 2008 ; 6 : 58.

Cordina-Duverger E, Menegaux F, Popa A, *et al*. Night shift work and breast cancer: a pooled analysis of population-based case-control studies with complete work history. *Eur J Epidemiol* 2018 ; 33(4) : 369-79.

Defarge N, Takacs E, Lozano VL, *et al*. Co-formulants in glyphosate-based herbicides disrupt aromatase activity in human cells below toxic levels. *Int J Environ Res Public Health* 2016 ; 13 : 264.

Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, *et al*. *Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Synthèse* : *Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim Volume 1 – Tumeurs solides*. Saint-Maurice, France : Santé publique France, 2019 : 372 p.

Deloumeaux J, Bhakkan-Mambir B, Peruvien J, *et al*. *Estimations régionales et départementales d'incidence et de mortalité par cancers en France, 2007-2016. Guadeloupe*. Santé publique France. Saint-Maurice, 2019 : 106 p.

Duell EJ, Millikan RC, Savitz DA, *et al*. A population-based case-control study of farming and breast cancer in North Carolina. *Epidemiology* 2000 ; 11 : 523-31.

El-Zaemey S, Heyworth J, Fritschi L. Noticing pesticide spray drift from agricultural pesticide application areas and breast cancer: a case-control study. *Aust N Z J Public Health* 2013 ; 37 : 547-55.

Engel LS, Werder E, Satagopan J, *et al*. Insecticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 97002.

Engel LS, Hill DA, Hoppin JA, *et al*. Pesticide use and breast cancer risk among farmers' wives in the Agricultural Health Study. *Am J Epidemiol* 2005 ; 161 : 121-35.

EPA. *EDSP: Weight of evidence analysis of potential interaction with the estrogen, androgen or thyroid pathways: Chemical: Glyphosate*: Office of Pesticide Programs, Office of Science Coordination and Policy, U.S. Environmental Protection Agency, 2015 : 70 p.

Fentiman IS. The endocrinology of male breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2018 ; 25 : R365-R373.

Fentiman IS, Fourquet A, Hortobagyi GN. Male breast cancer. *Lancet* 2006 ; 367 : 595-604.

Garcia-Perez J, Lope V, Perez-Gomez B, *et al*. Risk of breast cancer and residential proximity to industrial installations: New findings from a multicase-control study (MCC-Spain). *Environ Pollut* 2018 ; 237 : 559-68.

Gardner KM, Ou Shu X, Jin F, *et al*. Occupations and breast cancer risk among Chinese women in urban Shanghai. *Am J Ind Med* 2002 ; 42 : 296-308.

Gomez AL, Altamirano GA, Leturia J, *et al*. Male mammary gland development and methylation status of estrogen receptor alpha in Wistar rats are modified by the developmental exposure to a glyphosate-based herbicide. *Mol Cell Endocrinol* 2019 ; 481 : 14-25.

Guerrero Schimpf M, Milesi MM, Luque EH, *et al*. Glyphosate-based herbicide enhances the uterine sensitivity to estradiol in rats. *J Endocrinol* 2018 ; 239 : 197.

Guerrero Schimpf M, Milesi MM, Ingaramo PI, *et al*. Neonatal exposure to a glyphosate based herbicide alters the development of the rat uterus. *Toxicology* 2017 ; 376 : 2-14.

He T-T, Zuo A-J, Wang J-G, *et al*. Organochlorine pesticides accumulation and breast cancer: A hospital-based case-control study. *Tumour Biol* 2017 ; 39 : 1010428317699114.

Hokanson R, Fudge R, Chowdhary R, *et al*. Alteration of estrogen-regulated gene expression in human cells induced by the agricultural and horticultural herbicide glyphosate. *Hum Exp Toxicol* 2007 ; 26 : 747-52.

Holmes AK, Koller KR, Kieszak SM, *et al*. Case-control study of breast cancer and exposure to synthetic environmental chemicals among Alaska Native women. *Int J Circumpolar Health* 2014 ; 73 : 25760.

Hoyer AP, Jorgensen T, Rank F, *et al*. Organochlorine exposures influence on breast cancer risk and survival according to estrogen receptor status: a Danish cohort-nested case-control study. *BMC Cancer* 2001 ; 1 : 8.

Hoyer AP, Jorgensen T, Brock JW, *et al*. Organochlorine exposure and breast cancer survival. *J Clin Epidemiol* 2000 ; 53 : 323-30.

Hunter DJ, Kelsey KT. Pesticide residues and breast cancer: the harvest of a silent spring? *J Natl Cancer Inst* 1993 ; 85 : 598-9.

Ingber SZ, Buser MC, Pohl HR, *et al*. DDT/DDE and breast cancer: a meta-analysis. *Regul Toxicol Pharmacol* 2013 ; 67 : 421-33.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise Collective. Paris : Inserm, 2013 : 1001 p.

Jones ME, Schoemaker MJ, McFadden EC, *et al*. Night shift work and risk of breast cancer in women: the Generations Study cohort. *Br J Cancer* 2019 ; 121 : 172-9.

Kang KS, Wilson MR, Hayashi T, *et al*. Inhibition of gap junctional intercellular communication in normal human breast epithelial cells after treatment with pesticides, PCBs, and PBBs, alone or in mixtures. *Environ Health Perspect* 1996 ; 104 : 192-200.

Kelce WR, Stone CR, Laws SC, *et al*. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 1995 ; 375 : 581-5.

Khanjani N, Hoving JL, Forbes AB, *et al*. Systematic review and meta-analysis of cyclodiene insecticides and breast cancer. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2007 ; 25 : 23-52.

Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA, *et al*. Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and Asian women. *J Natl Cancer Inst* 1994 ; 86 : 589-99.

Kristensen P, Andersen A, Irgens LM, *et al*. Incidence and risk factors of cancer among men and women in Norwegian agriculture. *Scand J Work Environ Health* 1996 ; 22 : 14-26.

Legler J, van den Brink, C E, Brouwer A, *et al*. Development of a stably transfected estrogen receptor-mediated luciferase reporter gene assay in the human T47D breast cancer cell line. *Toxicol Sci* 1999 ; 48 : 55-66.

Lemaire G, Mnif W, Mauvais P, *et al*. Activation of alpha- and beta-estrogen receptors by persistent pesticides in reporter cell lines. *Life Sci* 2006 ; 79 : 1160-9.

Lerro CC, Koutros S, Andreotti G, *et al*. Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Occup Environ Med* 2015 ; 72 : 736-44.

Lin N, Garry V. In vitro studies of cellular and molecular developmental toxicity of adjuvants, herbicides, and fungicides commonly used in Red River Valley, Minnesota. *J Toxicol Environ Health A* 2000 ; 60 : 423-39.

Li Q, Lambrechts MJ, Zhang Q, *et al*. Glyphosate and AMPA inhibit cancer cell growth through inhibiting intracellular glycine synthesis. *Drug Des Devel Ther* 2013 ; 7 : 635-43.

Lopez-Cervantes M, Torres-Sanchez L, Tobias A, *et al*. Dichlorodiphenyldichloroethane burden and breast cancer risk: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 207-14.

Lorenz V, Milesi MM, Schimpf MG, *et al*. Epigenetic disruption of estrogen receptor alpha is induced by a glyphosate-based herbicide in the preimplantation uterus of rats. *Mol Cell Endocrinol* 2019 ; 480 : 133-41.

Louis LM, Lerro CC, Friesen MC, *et al*. A prospective study of cancer risk among Agricultural Health Study farm spouses associated with personal use of organochlorine insecticides. *Environ Health* 2017 ; 16 : 95.

Macacu A, Autier P, Boniol M, *et al*. Active and passive smoking and risk of breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2015 ; 154 : 213-24.

McElroy JA, Gangnon RE, Newcomb PA, *et al*. Risk of breast cancer for women living in rural areas from adult exposure to atrazine from well water in Wisconsin. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2007 ; 17 : 207-14.

Meilhac O, Michel J-B. Le devenir des cellules SDF. *Med Sci (Paris)* 2005 ; 21 : 119-20.

Mesnage R, Biserni M, Genkova D, *et al*. Evaluation of neonicotinoid insecticides for oestrogenic, thyroidogenic and adipogenic activity reveals imidacloprid causes lipid accumulation. *J Appl Toxicol* 2018 ; 38 : 1483-91.

Mesnage R, Phedonos A, Biserni M, *et al*. Evaluation of estrogen receptor alpha activation by glyphosate-based herbicide constituents. *Food Chem Toxicol* 2017 ; 108 : 30-42.

Mills PK, Dodge JL, Bush J, *et al*. Agricultural exposures and breast cancer among Latina in the San Joaquin Valley of California. *J Occup Environ Med* 2019 ; 61 : 552-8.

Niehoff NM, Nichols HB, White AJ, *et al*. Childhood and adolescent pesticide exposure and breast cancer risk. *Epidemiology* 2016 ; 27 : 326-33.

Nishi K, Hundal SS. Chlorpyrifos induced toxicity in reproductive organs of female Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 62 : 732-8.

Owagboriaye FO, Dedeke GA, Ademolu KO, *et al*. Reproductive toxicity of Roundup herbicide exposure in male albino rat. *Exp Toxicol Pathol* 2017 ; 69 : 461-8.

Parada Jr H, Sun X, Tse C-K, *et al*. Plasma levels of dichlorodiphenyldichloroethene (DDE) and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and survival following breast cancer in the Carolina Breast Cancer Study. *Environ Int* 2019 ; 125 : 161-71.

Parada Jr H, Wolff MS, Engel LS, *et al*. Organochlorine insecticides DDT and chlordane in relation to survival following breast cancer. *Int J Cancer* 2016 ; 138 : 565-75.

Parajuli KR, Zhang Q, Liu S, *et al*. Aminomethylphosphonic acid inhibits growth and metastasis of human prostate cancer in an orthotopic xenograft mouse model. *Oncotarget ; Vol 7, No* 9 2016 ; 7 : 10616.

Parajuli RK, Zhang Q, Liu S, *et al*. Aminomethylphosphonic acid and methoxyacetic acid induce apoptosis in prostate cancer cells. *Int J Mol Sci* 2015 ; 16 : 11750.

Park J-H, Cha ES, Ko Y, *et al*. Exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Osong Public Health Res Perspect* 2014 ; 5 : 77-84.

Picon-Ruiz M, Morata-Tarifa C, Valle-Goffin JJ, *et al*. Obesity and adverse breast cancer risk and outcome: Mechanistic insights and strategies for intervention. *CA Cancer J Clin* 2017 ; 67 : 378-97.

Pollán M, Gustavsson P, Floderus B. Breast cancer, occupation, and exposure to electromagnetic fields among Swedish men. *Am J Ind Med* 2001 ; 39 : 276-85.

Pukkala E, Martinsen JI, Lynge E, *et al*. Occupation and cancer - follow-up of 15 million people in five Nordic countries. *Acta Oncol* 2009 ; 48 : 646-790.

Ramamoorthy K, Wang F, Chen IC, *et al*. Estrogenic activity of a dieldrin/toxaphene mixture in the mouse uterus, MCF-7 human breast cancer cells, and yeast-based estrogen receptor assays: no apparent synergism. *Endocrinology* 1997 ; 138 : 1520-7.

Rasmussen TH, Nielsen JB. Critical parameters in the MCF-7 cell proliferation bioassay (E-Screen). *Biomarkers* 2002 ; 7 : 322-36.

Reynolds P, Hurley SE, Gunier RB, *et al*. Residential proximity to agricultural pesticide use and incidence of breast cancer in California, 1988-1997. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 993-1000.

Rich JD, Gabriel SM, Schultz-Norton JR. In vitro effects of herbicides and insecticides on human breast cells. *ISRN Toxicol* 2012 ; 2012 : 232461.

Romano MA, Romano RM, Santos LD, *et al*. Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Arch Toxicol* 2012 ; 86 : 663-73.

Ruddy KJ, Winer EP. Male breast cancer: risk factors, biology, diagnosis, treatment, and survivorship. *Ann Oncol* 2013 ; 24 : 1434-43.

Salerno C, Carcagni A, Sacco S, *et al*. An Italian population-based case-control study on the association between farming and cancer: Are pesticides a plausible risk factor? *Arch Environ Occup Health* 2016 ; 71 : 147-56.

Settimi L, Comba P, Carrieri P, *et al*. Cancer risk among female agricultural workers: a multi-center case-control study. *Am J Ind Med* 1999 ; 36 : 135-41.

Silva AMC, Campos PHN, Mattos IE, *et al*. Environmental exposure to pesticides and breast cancer in a region of intensive agribusiness activity in Brazil: a case-control study. *Int J Environ Res Public Health* 2019 ; 16.

Snedeker SM. Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ Health Perspect* 2001 ; 109 Suppl 1 : 35-47.

Soto AM, Chung KL, Sonnenschein C. The pesticides endosulfan, toxaphene, and dieldrin have estrogenic effects on human estrogen-sensitive cells. *Environ Health Perspect* 1994 ; 102 : 380-3.

Sritana N, Suriyo T, Kanitwithayanun J, *et al*. Glyphosate induces growth of estrogen receptor alpha positive cholangiocarcinoma cells via non-genomic estrogen receptor/ERK1/2 signaling pathway. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 595-607.

Stalsberg H, Thomas DB, Rosenblatt KA, *et al*. Histologic types and hormone receptors in breast cancer in men: a population-based study in 282 United States men. *Cancer Causes Control* 1993 ; 4 : 143-51.

Stern AH. Hazard identification of the potential for dieldrin carcinogenicity to humans. *Environ Res* 2014 ; 131 : 188-214.

Stur E, Aristizabal-Pachon AF, Peronni KC, *et al*. Glyphosate-based herbicides at low doses affect canonical pathways in estrogen positive and negative breast cancer cell lines. *PLoS One* 2019 ; 14 : e0219610.

Tayour C, Ritz B, Langholz B, *et al*. A case-control study of breast cancer risk and ambient exposure to pesticides. *Environ Epidemiol* 2019 ; 3.

Thomas DB. Breast cancer in men. *Epidemiol Rev* 1993 ; 15 : 220-31.

Thongprakaisang S, Thiantanawat A, Rangkadilok N, *et al*. Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 59 : 129-36.

Travis RC, Balkwill A, Fensom GK, *et al*. Night shift work and breast cancer incidence: three prospective studies and meta-analysis of published studies. *J Natl Cancer Inst* 2016 ; 108 : djw169.

Valerón PF, Pestano JJ, Luzardo OP, *et al*. Differential effects exerted on human mammary epithelial cells by environmentally relevant organochlorine pesticides either individually or in combination. *Chem Biol Interact* 2009 ; 180 : 485-91.

Ventura C, Zappia CD, Lasagna M, *et al*. Effects of the pesticide chlorpyrifos on breast cancer disease. Implication of epigenetic mechanisms. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2019 ; 186 : 96-104.

Ventura C, Nieto MRR, Bourguignon N, *et al*. Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016 ; 156 : 1-9.

Ventura C, Venturino A, Miret N, *et al*. Chlorpyrifos inhibits cell proliferation through ERK1/2 phosphorylation in breast cancer cell lines. *Chemosphere* 2015 ; 120 : 343-50.

Ventura C, Nunez M, Miret N, *et al*. Differential mechanisms of action are involved in chlorpyrifos effects in estrogen-dependent or -independent breast cancer cells exposed to low or high concentrations of the pesticide. *Toxicol Lett* 2012 ; 213 : 184-93.

Verma SP, Salamone E, Goldin B. Curcumin and genistein, plant natural products, show synergistic inhibitory effects on the growth of human breast cancer MCF-7 cells induced by estrogenic pesticides. *Biochem Biophys Res Commun* 1997 ; 233 : 692-6.

Villeneuve S, Fevotte J, Anger A, *et al*. Breast cancer risk by occupation and industry: analysis of the CECILE study, a population-based case-control study in France. *Am J Ind Med* 2011 ; 54 : 499-509.

Villeneuve S, Cyr D, Lynge E, *et al*. Occupation and occupational exposure to endocrine disrupting chemicals in male breast cancer: a case-control study in Europe. *Occup Environ Med* 2010 ; 67 : 837-44.

Vinggaard AM, Breinholt V, Larsen JC. Screening of selected pesticides for oestrogen receptor activation in vitro. *Food Addit Contam* 1999 ; 16 : 533-42.

Wade MG, Desaulniers D, Leingartner K, *et al*. Interactions between endosulfan and dieldrin on estrogen-mediated processes in vitro and in vivo. *Reprod Toxicol* 1997 ; 11 : 791-8.

Walsh LP, McCormick C, Martin C, *et al*. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ Health Perspect* 2000 ; 108 : 769-76.

Ward EM, Germolec D, Kogevinas M, *et al*. Carcinogenicity of night shift work. *Lancet Oncol* 2019 ; 20 : 1058-9.

Wegrzyn LR, Tamimi RM, Rosner BA, *et al*. Rotating night-shift work and the risk of breast cancer in the nurses' health studies. *Am J Epidemiol* 2017 ; 186 : 532-40.

Weiss JR, Moysich KB, Swede H. Epidemiology of male breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers &amp ; Prevention* 2005 ; 14 : 20.

Wielsøe M, Kern P, Bonefeld-Jorgensen EC. Serum levels of environmental pollutants is a risk factor for breast cancer in Inuit: a case control study. *Environ Health* 2017 ; 16 : 56.

Wiklund K, Dich J. Cancer risks among female farmers in Sweden. *Cancer Causes Control* 1994 ; 5 : 449-57.

Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW, *et al*. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993 ; 85 : 648-52.

Zhao H, Zhou L, Shangguan AJ, *et al*. Aromatase expression and regulation in breast and endometrial cancer. *J Mol Endocrinol* 2016 ; 57 : R19-33.

14
Cancers de la vessie et du rein

Le cancer de la vessie est très lié au tabagisme et le rôle de certains composés chimiques (amines aromatiques AA, hydrocarbures aromatiques polycycliques, HAP), excrétés par voie urinaire, dans la survenue de ces cancers est clairement décrit. Les liens entre l'exposition professionnelle ou environnementale aux pesticides et le risque de survenue des cancers de la vessie et du rein ont fait l'objet de recherches épidémiologiques depuis la fin des années 1980. Les premières analyses menées en milieu agricole, n'ont pas mis en évidence d'élévation du risque. Cependant, il est reconnu que la population en milieu agricole est moins exposée au tabagisme et cela pourrait masquer un effet de l'exposition aux pesticides.

Ces cancers n'ayant pas été pris en compte dans l'expertise collective de l'Inserm en 2013, ce chapitre présente un état des connaissances, en s'appuyant sur les données de la littérature scientifique disponible en date du dernier semestre 2019.

Cancer de la vessie : incidence, mortalité et facteurs de risque

Avec plus de 16 000 nouveaux cas en 2018, le cancer de la vessie représente 3,6 % des nouveaux cas de cancers (5e rang), et 3,9 % des décès par cancer (8e rang) en France (Ferlay et coll., 2018). Il est environ six fois plus fréquent chez l'homme que chez la femme, avec un taux d'incidence respectivement de 14,3 et 2,4 pour 100 000 personnes en France (Defossez et coll., 2019). D'après le réseau de registres des cancers SEER (*Surveillance, Epidemiology and End Results*) aux États-Unis, le taux de survie à 5 ans pour ce cancer est environ 77 % (Noone et coll., 2018). Les tumeurs superficielles non infiltrantes de la vessie se limitent à la muqueuse, et représentent 70-80 % des cas de ce cancer au moment du diagnostic, alors que les tumeurs infiltrantes, qui atteignent le muscle vésical, sont associées à un risque d'évolution métastatique (poumons, foie ou os). Il existe plusieurs types histologiques : majoritairement les carcinomes urothéliaux (90 %), et plus rarement les

carcinomes épidermoïdes, les adénocarcinomes ou les carcinomes à petites cellules.

Le cancer de la vessie est très lié au tabagisme, l'association étant aujourd'hui considérée comme causale, mais aussi à la bilharziose et à certaines expositions professionnelles ou environnementales. Le Centre international de recherche sur le cancer (Circ) a considéré comme suffisantes les preuves de cancer de la vessie chez les travailleurs des industries de production de l'aluminium et du caoutchouc, ainsi que chez les peintres (IARC, 2012b). En effet, de nombreuses substances chimiques, utilisées dans ces secteurs professionnels, ont été associées avec un fort niveau de preuve à ce cancer. Parmi celles-ci figurent les AA (par exemple 4-aminobiphényle, benzidine, 2-naphthylamine, ortho-toluidine) et les HAP, dont une des sources est le tabagisme.

Les seuls facteurs de risque professionnel de cancer de la vessie ouvrant droit à une réparation au titre des tableaux de maladies professionnelles en France sont l'exposition à certaines AA (Tableau de maladie professionnelle 15ter du régime général) et les travaux comportant l'emploi de goudrons, huiles et brais de houille, et les suies de combustion du charbon contenant notamment des HAP (Tableau de maladie professionnelle 16bis du régime général et 35bis du régime agricole).

Mécanismes biologiques à l'origine du développement du cancer de la vessie

Parmi les mécanismes biologiques favorisant le développement tumoral, un rôle a été rapporté pour le contact de substances cancérogènes (AA, HAP, métaux) ou leurs métabolites avec la muqueuse vésicale. Les métabolites de ces agents, issus de la phase I du métabolisme, sont pour certains très réactifs et en conséquence susceptibles d'établir des liaisons covalentes avec l'ADN (formant ainsi des adduits). La présence d'adduits à l'ADN est reconnue comme une étape de cancérogénèse dépendante de mutations induites par une réplication de l'ADN non fidèle et un processus altéré de réparation des lésions de l'ADN. En conséquence, il est probable que des susceptibilités génétiques individuelles reposent sur des différences d'expression, d'inductibilité ou d'activité des enzymes participant à la bioactivation (enzymes de phase I ou phase IV) ou à la détoxification (enzymes de phase II ou transporteurs de phase III). Les enzymes de phase I et II interviennent respectivement dans des réactions d'oxydation (rarement de réduction) et de conjugaison. Les enzymes ou transporteurs de phase III sont représentés par des

pompes d'efflux alors que les enzymes de phase IV correspondent à des systèmes de déconjugaison. Un exemple d'enzyme de phase IV est la β-glucuronidase qui libère le 2-naphthylamine en métabolisant une forme inactive de la molécule conjuguée à l'acide glucuronique. L'activité de cette enzyme dans la vessie serait impliquée dans la carcinogénicité de 2-naphthylamine et d'autres molécules, mais ce mécanisme est controversé (Paigen et coll., 1984). Diverses enzymes de phase I et II présentent des polymorphismes dont l'association de ces variants avec le risque de cancer du tractus urinaire est désormais documentée (Stojanovic et coll., 2018).

De nombreuses altérations génétiques et épigénétiques ont été impliquées directement ou non dans la formation de tumeurs de la vessie. Parmi les facteurs génétiques participant à la carcinogenèse, il est rapporté, pour les tumeurs superficielles de la vessie, des mutations activatrices des oncogènes *HRAS*, *FGFR3* et *PIK3CA* survenant dans l'urothélium sain (gènes plutôt impliqués dans la prolifération cellulaire) (Juanpere et coll., 2012), ces tumeurs évoluant rarement vers le stade métastatique. Ainsi, les mutations du gène codant le récepteur 3 du FGF ont pour effet la stimulation de la voie RAS-MAPK (tous comme celle de HRAS) et participent en conséquence à la carcinogenèse vésicale de faibles grades (Cappellen et coll., 1999). En revanche, l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs (*TP53*, *RB*, impliqués dans la stabilité du génome et *PTEN*, gène contrôlant l'activité de la PI3K, citée plus haut) est retrouvée dans la formation de carcinomes infiltrants aboutissant à la maladie métastatique (Guo et Czerniak, 2019).

Cancer du rein : incidence, mortalité et facteurs de risque

Avec environ 15 000 nouveaux cas en 2018, le cancer du rein représente 3,5 % des nouveaux cas de cancers (6e rang), et 2,9 % des décès par cancer (11e rang) en France (Ferlay et coll., 2018). Il est plus de deux fois plus fréquent chez l'homme que chez la femme, avec un taux d'incidence respectivement de 17,1 et 7,1 pour 100 000 personnes en France (Defossez et coll., 2019). Les tumeurs rénales sont rares pendant l'enfance (7 % des cancers) et l'âge moyen au diagnostic est de 65 ans, avec un patient sur trois présentant des métastases lors du diagnostic. D'après le réseau de registres des cancers SEER aux États-Unis, le taux de survie à 5 ans pour ce cancer est environ 75 % (Noone et coll., 2018). La tumeur rénale la plus fréquente est celle du parenchyme rénal, ou encore carcinome à cellules rénales qui représente 85 % des cas (dont la forme à cellules claires, voir plus loin). Cinq autres types histologiques et de nombreux sous-types histologiques constituent les

15 % restants. Les principaux facteurs de risque pour ce cancer sont le sexe, l'obésité (indice de masse corporelle > 30), l'hypertension artérielle, les rayonnements ionisants et le tabagisme (Scelo et Larose, 2018). Il existe aussi une forte composante génétique, avec plus d'une douzaine de gènes impliqués dans des formes familiales de carcinome à cellules rénales (Lui et Shuch, 2019) ainsi que dans le développement des tumeurs rénales pédiatriques (Royer-Pokora, 2013). En ce qui concerne les agents chimiques, le Circ a classé le trichloréthylène comme cancérogène pour l'être humain (groupe 1) en raison de son association avec le cancer du rein sur la base de preuves épidémiologiques et mécanistiques (IARC, 2014).

Mécanismes biologiques à l'origine du développement du cancer du rein

D'un point de vue général, la cancérogenèse rénale repose plutôt sur des mécanismes épigénétiques que des mécanismes mutationnels (Joosten et coll., 2018). Les altérations épigénétiques comprennent des modifications des histones, de la méthylation de promoteurs et des variations de taux de micro-ARN qui interviennent dans des voies de signalisation, telles que la voie des *hypoxia-inducible factors* HIF (à laquelle appartient le suppresseur de tumeur von Hippel-Lindau ; VHL), la voie WNT-β-caténine et les voies impliquées dans la transition épithélio-mésenchymateuse. En raison de leur implication et de leur fréquence, ces modifications épigénétiques sont considérées comme des biomarqueurs potentiels pour la détection précoce de la maladie et pour la prédiction du pronostic et de la réponse au traitement (Costa-Pinheiro et coll., 2015). Par exemple un ensemble de promoteurs hyperméthylés correspondant aux gènes *APC*, *RASSF1A* et *RARβ2* peut détecter un carcinome à cellules rénales avec 94 % de sensibilité et spécificité dans des échantillons urinaires ou sanguins (Hoque et coll., 2004).

Le carcinome à cellules claires, le sous-type histologique le plus courant, est caractérisé par l'inactivation du gène suppresseur de tumeur *VHL* par mutation ou hyperméthylation de son promoteur dans plus de 80 % des cas sporadiques (Nickerson et coll., 2008). Le deuxième allèle est perdu par délétion du chromosome 3p, observée dans environ 90 % des cas. La protéine VHL (pVHL) est impliquée dans un certain nombre de fonctions cellulaires contribuant au processus de cancérogenèse ; l'assemblage de la matrice extracellulaire, la ciliogenèse, la stabilisation des microtubules, la sénescence et la réparation des lésions de l'ADN. La protéine pVHL est aussi impliquée dans la médiation des réponses adaptatives à l'hypoxie (via la dégradation par ubiquitination des facteurs HIF-1α et HIF-2α, une perte de pVHL favorisant

ainsi l'expression de ces facteurs HIF et leur action pro-carcinogénique). À titre d'exemple, l'accumulation des HIF est responsable de l'augmentation d'expression du *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) et du *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) qui sont impliqués dans l'angiogenèse, l'invasion et le processus métastatique. Des modifications épigénétiques induites par l'hypoxie ont été mises en cause dans l'insuffisance rénale et la tumorigenèse, en particulier pour le carcinome à cellules claires (Guo et coll., 2011). Récemment, sur le plan moléculaire, la preuve d'un lien entre l'hypoxie et les modifications post-traductionnelles des histones a été fournie (Johnson et coll., 2008 ; Vieira-Coimbra et coll., 2015).

Les données actuelles suggèrent toutefois que la perte de pVHL seule, bien que nécessaire, ne soit pas suffisante pour initier le cancer rénal. Récemment, des études de séquençage à haut-débit ont identifié le *PBRM1*, codant un composant du complexe SWI/SNF de remodelage de la chromatine, comme deuxième gène le plus fréquemment muté dans le carcinome à cellules claires (Varela et coll., 2011). Ainsi, la perte de pVHL seule induit un stress de réplication et une accumulation de dommages à l'ADN, réponses limitant la prolifération et la transformation cellulaires, et la perte concomitante de PBRM1 bloque ce stress réplicatif dépendant de l'expression de VHL et confère un avantage en matière de survie et de prolifération, favorisant ainsi la cancérogenèse rénale (Espana-Agusti et coll., 2017).

Outre la régulation des gènes codant les protéines, des micro-ARN sont aussi impliqués dans la pathogenèse du carcinome à cellules claires. La caractérisation de leurs fonctions « suppressives » ou « oncogéniques » dans le cancer du rein est très active depuis quelques années (Li et coll., 2016 ; Khella et coll., 2017 ; Petrozza et coll., 2017 ; Xiao et coll., 2017) et certains sont des biomarqueurs prometteurs pour discriminer les cellules rénales tumorales de tissu rénal sain (Silva-Santos et coll., 2013).

Données épidémiologiques

Les premières études menées dès les années 1980 sur les profils de mortalité et d'incidence chez les agriculteurs tendaient à mettre en évidence une sous-mortalité et une sous-incidence de cancers de la vessie. À noter qu'elles n'étudiaient généralement pas spécifiquement le cancer du rein, en raison de sa faible incidence. Ainsi deux méta-analyses menées l'une en 1992 à partir de 21 études (Blair et coll., 1992) et la seconde en 1998 sur 29 études (Acquavella et coll., 1998) montraient toutes deux des déficits significatifs de risque de cancer de la vessie chez les agriculteurs (pour la première de

15 % et pour la seconde de 21 %). Pour le cancer du rein, les résultats divergeaient, certaines études trouvant des élévations de risque et d'autres des diminutions. Ces études, la plupart de nature rétrospective, ne prenaient le plus souvent pas en compte le tabagisme et n'étaient pas en mesure d'affiner les analyses par type d'exposition aux pesticides (tâches réalisées, nature des pesticides). Aussi, compte tenu de la force du lien entre tabagisme et cancer de la vessie, l'association négative observée entre la profession d'agriculteur et le cancer de la vessie pouvait s'expliquer, au moins pour partie, par le moindre tabagisme observé de manière récurrente en population agricole, en particulier chez les chefs d'exploitation. Cependant, comme pour le cancer du poumon, ces résultats ne permettaient pas d'exclure l'existence de facteurs de risque de cancer des voies urinaires en agriculture, et notamment un éventuel rôle des pesticides. Les études épidémiologiques, cohortes et cas-témoins, en majorité publiées à partir des années 2000, sont décrites dans cette section (tableau 14.I, voir en fin de ce chapitre).

Méta-analyses

Cancer de la vessie et exposition aux pesticides

Deux articles de synthèse ont été récemment publiés : le premier en 2016 est une méta-analyse estimant les effets des pesticides sur le risque de cancer de la vessie à partir des données épidémiologiques existantes (Liang et coll., 2016) et le second, publié en 2018 est une revue concernant les études portant sur l'interaction gène environnement dans le cancer de la vessie (Stojanovic et coll., 2018).

La méta-analyse des études épidémiologiques a retenu 9 articles (7 études cas-témoins et 2 études qualifiées de cohortes par les auteurs, mais qui sont en réalité des études écologiques) correspondant à des études menées entre 1977 et 2011. Les scores de qualité de ces études sur l'échelle de Newcastle-Ottawa (*Newcastle-Ottawa Scale* – NOS ; une méthode d'évaluation de la qualité d'études non-randomisées) variaient entre 5 et 7 sur 10. À partir de ces études, le risque combiné de cancer de la vessie en lien avec l'exposition aux pesticides était estimé à 1,65 ; IC 95 % [1,22-2,22], mais avec une hétérogénéité importante entre les études, non expliquée par les auteurs. Les analyses de sous-groupes concluaient que les études cas-témoins mettaient en évidence une élévation significative du risque plus marquée, de même que les études menées en Amérique par rapport à celles menées en Europe ou en Afrique. Les études considérées comme de moins bonne qualité observaient des risques plus élevés. À noter que les deux études classées comme des cohortes par les auteurs correspondaient plutôt à des études écologiques.

Par ailleurs, plusieurs études pertinentes n'ont pas été retenues par la procédure de sélection des articles dans cette méta-analyse, comme par exemple les publications de l'*Agricultural Health Study* (AHS) ou encore les études cas-témoins menées en Égypte. Au total cette méta-analyse ne permet pas de se faire une idée complète de la littérature aujourd'hui publiée sur la question du lien entre pesticides et cancer de la vessie.

Cancer de la vessie, pesticides et polymorphisme génétique

Une revue de 15 études sur le cancer de la vessie a rapporté une association potentielle entre des polymorphismes des gènes de phase II codant les glutathion-S-transférases (*GSTM1*, *GSTT1*), N-acétyl-transférases (*NAT2*) et sulfo-transférases (*SULT1A1*) et le risque de cancer de la vessie pour les sujets exposés aux HAP et aux AA (Stojanovic et coll., 2018). Les GST sont des enzymes assurant des réactions de conjugaison avec le glutathion limitant la réactivité des intermédiaires et permettant une élimination des xénobiotiques dans les fluides biologiques (urines...). Ce large groupe d'iso-enzymes avec 4 sous-classes (α, μ, π et θ) comporte pour chacun de ses représentants, des polymorphismes génétiques. Outre les polymorphismes, une double délétion de *GSTM1* et *GSTT1* est associée à un risque élevé de cancérogenèse induite par une exposition aux HAP. Les résultats de la méta-analyse indiquent une association positive entre le génotype Arg/Arg de *SULT1A1* et le cancer de la vessie chez des personnes exposées aux HAP et AA. À l'inverse, chez les personnes avec un génotype *NAT2* correspondant aux « acétyleurs rapides », l'effet détoxifiant correspond à un effet protecteur en cas d'exposition aux HAP et AA.

Cancer du rein et exposition aux pesticides

Une méta-analyse publiée en 2016 a estimé l'association entre l'exposition aux pesticides et le risque de cancer du rein, à partir des données épidémiologiques existantes, en utilisant les critères de qualité du NOS (Xie et coll., 2016). En date de mars 2015, 11 études épidémiologiques (7 cohortes et 4 études cas-témoins) ont été retenues par les auteurs. La plus ancienne de ces études portait sur la période 1950-1995 (Demers et coll., 2006) et la plus récente sur la période 1999-2003 (Karami et coll., 2008). À partir de ces études, le risque combiné de cancer du rein en lien avec l'exposition aux pesticides était de 1,10 ; IC 95 % [1,01-1,19], mais comme pour le cancer de la vessie, avec une hétérogénéité importante entre les études. Les auteurs ont de ce fait restreint l'analyse aux 8 études (4 cohortes et 4 études cas-témoins) obtenant au moins 7 points sur 10 sur l'échelle NOS. Le risque relatif (RR) était alors de 1,31 ; IC 95 % [1,12-1,51], avec une hétérogénéité

moindre, et restait significatif lorsque seules les études ayant pris en compte l'âge ou au moins deux facteurs de confusion étaient analysées. Les analyses de sous-groupes montraient que seules les études cas-témoins mettaient en évidence une élévation significative du risque, et que celle-ci provenait principalement des études nord-américaines. Les auteurs signalent également que les études incluses dans leur analyse ne prenaient pas toujours en compte des facteurs de confusion importants comme l'âge, le tabagisme ou les antécédents familiaux.

Cancer du rein, pesticides et polymorphisme génétique

La plupart des études sur l'association des polymorphismes génétiques des enzymes du métabolisme des xénobiotiques et la survenue d'un cancer du rein sont celles portant sur les GST. Les gènes *GSTM1* et *GSTT1* existent sous plusieurs formes alléliques, dont certaines qui sont non fonctionnelles et présentes à des fréquences variables au sein de différentes populations. À travers une méta-analyse, Abid et coll. ont démontré que les génotypes de *GSTM1* et *GSTT1* codant les formes actives des enzymes sont inversement associés avec le sous-groupe populationnel atteint d'un carcinome à cellules rénales exposé à des pesticides, suggérant leur implication dans la protection vis-à-vis du développement de cancers rénaux (Abid et coll., 2016). Ce résultat est concordant avec d'autres études sur le cancer du poumon (Carlsten et coll., 2008), de la prostate (Gong et coll., 2012) ou du foie (Song et coll., 2012). Toutefois, cet aspect est controversé car d'autres études sur le cancer du rein montrent à l'inverse que, de manière générale ou pour certaines sous-populations, les formes actives de *GSTM1* et *GSTT1* sont associées à une augmentation du risque en cas d'exposition aux pesticides ou d'autres agents toxiques, par exemple le trichloroéthylène (Karami et coll., 2008 ; Yang et coll., 2013 ; Huang et coll., 2015). Il conviendrait probablement de considérer quels métabolites sont produits en fonction du type d'exposition pour mieux comprendre ces différences (en s'intéressant dans un premier temps aux expositions ou co-expositions connues induisant l'apparition de cancers du rein). En effet, le métabolisme de composés halogénés tel que le trichloroéthylène peut suivre deux voies : *i*) une oxydation catalysée par des mono-oxygénases (FMO, CYP) avec la formation de métabolites finaux comme l'acide di- ou trichloroacétique, l'acide oxaloacétique et *ii*) une conjugaison catalysée par les GST conduisant à la S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cystéine qui est soit détoxifiée par l'action d'une N-acétyl-transférase, soit activée par l'action d'une β-lyase qui produit un chlorothioketene, intermédiaire réactif susceptible de former des adduits à l'ADN (Dekant et coll., 1986).

Études de cohorte

Cohortes prospectives

La cohorte prospective d'applicateurs de pesticides AHS en Caroline du Nord et Iowa fournit des données sur le cancer de la vessie, dans au moins trois publications : l'une portait spécifiquement sur les cancers de la vessie survenus chez les hommes pendant 14 à 18 ans de suivi et étudiait le lien avec la cinquantaine de molécules explorées dans la cohorte (Koutros et coll., 2016) ; les autres portaient sur deux herbicides spécifiques à savoir l'atrazine (Rusiecki et coll., 2004) et l'imazéthapyr (Koutros et coll., 2009). L'analyse portant sur le cancer de la vessie en lien avec l'ensemble des pesticides étudiés dans la cohorte a permis d'inclure 321 cas (Koutros et coll., 2016). Les femmes ont été exclues de l'analyse car une seule femme applicatrice était atteinte d'un cancer de la vessie. Parmi les 50 molécules dont l'usage a été recueilli par questionnaire à l'inclusion, six étaient significativement associées au cancer de la vessie dont cinq herbicides (bentazone, bromoxynil, chlorambène, diclofop-méthyl, imazaquine) et un insecticide (DDT) alors que deux molécules étaient à la limite de la significativité : l'herbicide 2,4-D et l'insecticide heptachlore. Lorsque le nombre de jours d'exposition cumulés au cours de la vie était pris en compte, deux molécules apparaissaient associées au cancer de la vessie parmi les personnes les plus exposées : l'herbicide 2,4,5-T (RR pour le tercile le plus élevé = 2,64 ; IC 95 % [1,23-5,68]) et l'imazéthapyr (RR pour le quartile le plus élevé = 3,03 ; IC 95 % [1,46-6,29]) et deux autres montraient une tendance : le 2,4-D (RR pour le quartile le plus élevé = 1,88 ; IC 95 % [0,94-3,77]) et le glyphosate (RR pour le quartile le plus élevé = 1,93 ; IC 95 % [0,95-3,91]). Pour 5 insecticides, une association positive était mise en évidence avec l'index cumulé d'exposition intégrant la durée et l'intensité : aldicarbe, carbofuran, chlordane, toxaphène, fonofos et perméthrine. Les associations étaient de manière générale plus marquées chez les non-fumeurs. Les auteurs soulignent la plausibilité biologique des associations mises en évidence avec l'imazéthapyr et l'imazaquine, deux herbicides imidazolinones ayant une structure d'amine aromatique, une classe chimique dont le lien avec le cancer de la vessie a été démontré dans d'autres usages que les pesticides. Dans l'étude portant sur l'atrazine, un triplement de risque non significatif était mis en évidence dans le dernier quartile du nombre de jours cumulés au cours de la vie (RR = 3,06 ; IC 95 % [0,86-10,81]) (Rusiecki et coll., 2004).

Concernant le cancer du rein, l'AHS a produit des données dans plusieurs analyses portant sur des molécules spécifiques, mais n'a pas à ce jour analysé le risque de cancer du rein en lien avec la cinquantaine de molécules explorées dans cette cohorte (Kang et coll., 2008 ; Koutros et coll., 2009 ; Jones

et coll., 2015). Trois analyses, menées à des temps différents de la cohorte, portaient respectivement sur l'herbicide trifluraline (à partir de 63 cas incidents), l'imazéthapyr (86 cas incidents), et l'insecticide diazinon (94 cas incidents). Des élévations non significatives du risque de cancer du rein étaient observées pour les personnes les plus exposées (3e tercile du nombre de jours au cours de la vie ou de l'index cumulé intégrant l'intensité). En revanche il n'était pas observé d'élévation du risque en lien avec l'atrazine (Rusiecki et coll., 2004) mais le nombre de cas incidents inclus dans les analyses ne dépassait pas 40.

Dans la cohorte française AGRICAN, le lien entre cancer de la vessie et expositions aux cultures et aux élevages a été analysé à partir de 179 cas incidents entre 2005 et 2009 (Boulanger et coll., 2017). Une association était mise en évidence chez les cultivateurs (*Hazard Ratio* ; HR = 1,89 ; IC 95 % [1,20-2,99]) par comparaison avec les agriculteurs n'ayant pas eu d'activité en lien avec des cultures. Un effet de la durée était mis en évidence. Par ailleurs, ce lien était plus fort chez les femmes cultivatrices (HR = 3,82 ; IC 95 % [1,58-9,25]) et chez les cultivateurs non-fumeurs (HR = 2,64 ; IC 95 % [1,39-5,02]). Une tendance à l'augmentation du risque était également observée chez les personnes qui cultivaient sous serres et chez les cultivateurs de pois, en particulier ceux qui déclaraient utiliser des pesticides sur cette culture, et chez les personnes travaillant dans les vignes lors de tâches impliquant une ré-entrée dans la culture. Des augmentations de risque plus modestes étaient observées chez les cultivateurs de tournesol et de colza. L'utilisation de dérivés arsenicaux a été analysée spécifiquement et il n'a pas été observé d'élévation de risque dans les cultures concernées. Dans le cadre d'AGRICAN le cancer du rein n'a pas à ce jour été analysé.

Cohortes rétrospectives

Une cohorte rétrospective, menée en Colombie-Britannique au Canada, portait spécifiquement sur des produits de traitement du bois : le pentachlorophénol (PCP) et le tétrachlorophénol en analysant l'incidence et la mortalité par cancer de 27 464 ouvriers de scierie entre 1950 et 1995 (Demers et coll., 2006). Quarante-trois décès dus au cancer de la vessie et 143 cas incidents de ce cancer étaient observés dans cette cohorte. La mortalité par cancer de la vessie était identique à celle de la population générale, bien que l'incidence de ce cancer apparaisse légèrement augmentée (de 16 %), sans qu'il soit mis en évidence de lien avec l'exposition aux chlorophénols. Pour le cancer du rein, 30 décès et 79 cas incidents étaient observés et les mesures d'association avec les chlorophénols, globalement et pour chaque molécule montraient des élévations de risque, le plus souvent non significatives.

Cependant, un doublement du risque de décès par cancer du rein apparaissait statistiquement significatif pour les personnes exposées au PCP.

En Islande, une cohorte rétrospective d'éleveurs de moutons ayant traité leurs animaux avec du lindane, mettait en évidence une diminution du risque de cancer de la vessie et de cancer du rein par rapport à la population générale (Rafnsson, 2006).

Cependant, les résultats de ces études rétrospectives doivent être interprétés avec prudence car le tabagisme, un facteur de risque avéré pour ces tumeurs, n'a pas été pris en compte.

Études cas-témoins

Cancer de la vessie

Une quinzaine d'études cas-témoins portant sur le cancer de la vessie ont analysé le lien avec l'exposition aux pesticides. Huit d'entre elles ont exploré des expositions professionnelles aux pesticides s'appuyant sur l'histoire des emplois, parfois complétée de questionnaires spécifiques. L'étude de Zahm et coll., à partir de 2 984 cas et 5 782 témoins en population générale recrutés dans 10 zones des États-Unis (5 États et 5 villes métropolitaines), analysait le lien avec les secteurs industriels (Zahm et coll., 1987). Elle ne mettait pas en évidence de lien globalement avec l'industrie chimique mais observait un doublement de risque non significatif dans l'industrie de fabrication des pesticides (OR = 2,3 ; IC 95 % [0,6-8,2]). En Italie, une étude portant sur 263 cas hospitaliers recrutés dans la région de Milan et 287 témoins hospitaliers concluait à une élévation du risque de cancer de la vessie chez les personnes exposées aux herbicides pendant plus de 10 ans (OR = 4,4 ; IC 90 % [1,3-14,6]) (La Vecchia et coll., 1990). Une autre étude italienne portant sur différents sites de cancer s'est également intéressée à l'exposition agricole, avec un recueil d'informations sur l'utilisation des pesticides, les équipements de protection, les caractéristiques des exploitations, les cultures. Elle ne retrouvait globalement pas d'élévation du risque de cancer de la vessie (Settimi et coll., 2001). Une étude au Texas portant sur 604 cas et 604 témoins, et reposant sur le recueil de l'historique professionnel (incluant les tâches, le matériel et les produits utilisés) mettait en évidence une élévation du risque pour les personnes travaillant en agriculture générale (OR = 1,51 ; IC 95 % [0,79-2,89]), particulièrement forte chez ceux qui avaient été exposés plus de 10 ans (OR = 9,58 ; IC 95 % [2,18-42,05]) (Cassidy et coll., 2009). L'association était en particulier retrouvée chez les éleveurs (OR = 1,90 ; IC 95 % [1,03-3,49]), notamment pour les personnes

qui avaient été exposées plus de 10 ans (OR = 6,18 ; IC 95 % [2,09-18,29]). Une élévation significative du risque était également montrée pour les personnes travaillant plus de 10 ans dans le secteur de l'agro-alimentaire OR = 3,36 ; IC 95 % [1,10-10,27].

Plusieurs études ont été menées en Égypte, en raison de la fréquence de la maladie (1er rang des cancers chez les hommes et 31 % de tous les cancers), dans un pays qui cumule bilharziose urinaire endémique et forte prévalence du tabagisme. À partir de 130 patients (dont 96 agriculteurs) et 260 témoins proches, l'exposition aux pesticides a été trouvée fortement associée au risque de cancer de la vessie (OR = 6,2 ; IC 95 % [3,5-11,3]) (Zarzour et coll., 2008). Une deuxième étude égyptienne portant sur 953 cas et 881 témoins a observé une élévation du risque chez les personnes exposées aux pesticides (OR = 1,68 [1,23-2,29]), plus marquée chez les personnes ayant été exposées plus de 40 ans (OR = 2,18 [1,62-2,95]. Dans cette même étude, sur un sous-échantillon de 419 cas et 358 témoins, le rôle de polymorphismes génétiques en lien avec la protection vis-à-vis du stress oxydant (*NQO1* et *SOD2*)[54] était mis en évidence, avec une élévation du risque chez les personnes exposées présentant la forme *NQO1* TT/TC (OR = 1,94 ; IC 95 % [1,20-3,14]) ou *SOD2* CC (OR = 1,74 ; IC 95 % [1,02-2,99]), et plus encore chez celles combinant ces variantes alléliques (OR = 2,14 ; IC 95 % [1,19-3,85]) (Amr et coll., 2015). La troisième étude égyptienne portait sur des femmes et analysait leur exposition para-professionnelle estimée à partir d'un métier en agriculture chez le conjoint ou le chef de famille. Chez les femmes mariées dont le chef de famille était agriculteur (454 cas et 824 témoins), le risque était élevé OR = 1,54 [1,09-2,18], aussi bien pour les carcinomes urothéliaux que pour les carcinomes épidermoïdes (Jackson et coll., 2017). Enfin, une étude en Turquie, ayant inclus 194 cas de cancers de la vessie et des témoins hospitaliers, a trouvé un lien avec l'utilisation professionnelle d'engrais chimique et d'insecticides (Akdaş et coll., 1990).

Trois études cas-témoins ont évalué l'exposition aux pesticides de la population générale. La première, menée dans le Massachusetts, s'intéressait plus spécifiquement aux expositions des riverains de cultures de canneberges. Elle analysait plusieurs localisations de cancer, et à partir de 79 cas de cancers de la vessie et 42 cas de cancers du rein, elle ne mettait pas en évidence d'élévation de risque pour ces localisations (Aschengrau et coll., 1996). Une étude plus récente en Belgique s'est également intéressée à la proximité de

54. *NQO1* : NAD(P)H-quinone oxydoréductase 1 et SOD2 : superoxyde dismutase 2. Des polymorphismes (respectivement rs1800566 et rs4880) donnent lieu à plusieurs isoformes de ces enzymes possédant une forte activité (génotype CC) ou des formes moins actives (génotypes TT et TC).

zones agricoles, en construisant des indicateurs géographiques d'exposition intégrant la distance aux cultures, la quantité de pesticides rapportée à la surface, des paramètres de dispersion liés à la météo. Cette étude, qui portait sur 592 sujets, mettait en évidence des élévations de risque modérées et non significatives, allant de 3 % pour les herbicides et les régulateurs de croissance à 26 % pour les fongicides (Cornelis et coll., 2009). Une troisième étude a estimé l'exposition de la population générale aux pesticides arsenicaux (historiquement utilisés en Nouvelle Angleterre, dans le Maine, le New Hampshire et le Vermont sur les myrtilles, les pommes et les pommes de terre) à partir de la consommation d'eau de puits. Une exposition cumulée en milligrammes a été calculée en tenant compte de la concentration d'arsenic dans l'eau de boisson et de l'origine de l'eau de boisson. À partir de 1 079 cas et 1 287 témoins en population générale, une élévation de risque de cancer de la vessie modérée a été observée au-delà de 486 mg d'exposition cumulée au cours de la vie (OR = 1,60 ; IC 95 % [0,90-2,87]), plus marquée et significative lorsqu'une latence de 40 ans était prise en compte (OR = 2,24 ; IC 95 % [1,29-3,89]), avec une relation dose-effet (Baris et coll., 2016).

À ces études prenant en compte les expositions professionnelles ou de la population générale, s'ajoutent 4 études cas-témoins construites plus spécifiquement pour analyser le rôle de polymorphismes génétiques dans la relation entre exposition aux pesticides et cancer de la vessie. Deux d'entre elles ont été menées en Inde et incluaient pour la première 50 cas hospitaliers et 50 témoins (Sharma et coll., 2013) et pour la seconde 60 cas et 60 témoins (Verma et coll., 2018). L'exposition aux pesticides était estimée à partir du dosage sanguin d'organochlorés et de leurs dérivés (congénères d'HCH et de DDT). Dans ces deux études, les valeurs biologiques de pesticides étaient plus élevées chez les cas que chez les témoins. Ces études mettaient en évidence, pour la première une interaction significative entre une exposition au β-HCH et le génotype *GSTT1* (Sharma et coll., 2013), et pour la seconde une interaction entre les valeurs de pesticides et l'expression de l'ARNm d'une enzyme de phase I, le CYP1A1 (Verma et coll., 2018). De la même manière, une étude serbe portant sur 143 cas de cancer de la vessie montrait une élévation de risque de cancer de la vessie en lien avec l'exposition aux pesticides recueillie par questionnaire (OR = 3,5 ; IC 95 % [0,9-12,9]), et une interaction avec *GSTT1*, à la limite de la significativité (p = 0,06) (Matic et coll., 2014). En Espagne, dans les îles Canaries, l'inclusion de 140 cas de tumeurs de la vessie et de 206 témoins n'a pas permis de mettre en évidence d'élévation de risque en lien avec des dérivés d'organochlorés dosés dans le sang, ni d'interaction avec les polymorphismes des *GSTM1* et *GSTT1* (Boada et coll., 2016).

Cancer du rein

Une des études cas-témoins ayant investigué le rôle des expositions agricoles sur un ensemble de localisations de cancer a porté à la fois sur le cancer de la vessie (voir ci-dessus) et sur le cancer du rein. Il s'agit de l'étude de Settimi et coll. en Italie du Nord, qui a inclus 39 cas de cancers du rein. Il n'était pas mis en évidence globalement d'élévation du risque pour ce type de cancer. Les analyses par types de culture montraient cependant un doublement non significatif du risque de cancer du rein chez les arboriculteurs OR = 2,1 ; IC 95 % [0,8-5,3] (Settimi et coll., 2001).

Trois études cas-témoins se sont par ailleurs intéressées spécifiquement au rôle des expositions professionnelles aux pesticides dans la survenue du cancer du rein. La première de ces études a été menée au Danemark et s'est appuyée sur le registre des cancers danois. Trois cent soixante-huit patients atteints de cancers rénaux et 396 témoins en population générale ont été interrogés sur leurs expositions professionnelles, notamment aux insecticides et aux herbicides. Pour les deux catégories de pesticides, des élévations de risque étaient observées, aussi bien chez les hommes que chez les femmes, devenant significatives pour des durées d'exposition – aux herbicides ou aux insecticides – dépassant 20 ans (hommes : OR = 3,9 ; IC 95 % [1,0-15,0] et femmes OR = 2,3 ; IC non calculé en raison des effectifs limités) (Mellemgaard et coll., 1994).

La deuxième étude, au Canada, a inclus 1 279 cas et 5 380 témoins en population générale, qui ont complété un questionnaire sur les expositions professionnelles, incluant des nuisances spécifiques, parmi lesquelles les sels d'arsenic, les créosotes, les herbicides et les pesticides (sans distinction de catégories). Des augmentations du risque de cancer du rein étaient observées pour toutes ces substances (à l'exception des arsenicaux), mais ces liens étaient statistiquement significatifs seulement chez les hommes. Les risques les plus élevés étaient observés pour les usages de pesticides – sans précision – (OR = 1,8 ; IC 95 % [1,4-2,3]) et les herbicides (OR = 1,6 ; IC 95 % [1,3-2,0]). Le risque de cancer en lien avec l'utilisation d'herbicides était plus élevé pour les expositions de plus de 15 ans (OR = 2,0 ; IC 95 % [1,4-2,7]) (Hu et coll., 2002).

Une troisième étude, en Europe Centrale et de l'Est, a recueilli les histoires professionnelles de 1 097 cas et 1 476 témoins hospitaliers (Karami et coll., 2008). Une expertise des expositions par des hygiénistes industriels a permis de déterminer la durée, la probabilité, la fréquence et l'intensité des expositions. Globalement, une élévation du risque de cancer du rein était observée (OR = 1,6 ; IC 95 % [1,00-2,55]), plus marquée pour les expositions

considérées comme les plus fiables (fiabilité « probable ou certaine ») (OR = 1,82 ; IC 95 % [1,10-3,00]), et pour les expositions au-delà de 8 ans (OR = 2,46 ; IC 95 % [1,33-4,58]). De plus, les auteurs ont montré une élévation de risque de survenue de cancers rénaux pour les personnes exposées aux pesticides et portant des allèles fonctionnels de *GSTM1* et *GSTT1* par rapport aux personnes non exposées portant au moins un allèle *GSTM1* ou *GSTT1* inactif (OR = 6,47 ; IC 95 % [1,82-23,00]).

Études écologiques

Trois études géographiques ont étudié les corrélations entre les expositions de la population générale aux pesticides et la survenue de cancer de la vessie. Une première étude menée en France mettait en évidence un lien entre la mortalité par cancer de la vessie dans les départements français (sur la période 1986-1989) et un indicateur d'exposition basé sur les nombres d'agriculteurs et la part de la surface agricole en viticulture. Elle a mis en évidence une élévation du risque de 14 % en lien avec l'exposition aux pesticides, statistiquement significative (Viel et Challier, 1995). Au Costa Rica, un index d'exposition géographique intégrant la surface agricole traitée par culture et par région, ainsi que le nombre d'applications et les modes d'application, a également permis de mettre en évidence un excès de plusieurs cancers dont ceux de la vessie (RR = 1,71 ; IC 95 % [1,01-2,90]) (Wesseling et coll., 1999). En revanche, il n'était pas observé d'élévation de risque pour le cancer du rein.

Une troisième étude écologique a été menée aux États-Unis et montrait une corrélation positive entre la mortalité due au cancer de la vessie et la consommation d'eau de surface qui contient généralement des taux de pesticides et des dérivés arsenicaux plus élevés que les eaux souterraines (Colli et Kolettis, 2010).

Données toxicologiques

Les données épidémiologiques suggèrent que l'exposition à certains pesticides pourrait être associée à une augmentation du risque de cancer de la vessie ou du rein. Des données issues d'études toxicologiques sur des modèles expérimentaux (cellules, animaux) ont conforté ces résultats et ont permis de mieux comprendre les mécanismes potentiellement à l'origine de leurs effets sur l'être humain.

Arsenic

L'arsenic et ses dérivés sont classés groupe 1 (cancérogènes avérés pour l'être humain) par le Circ sur la base d'une association entre exposition et cancer du poumon, de la vessie et de la peau outre des résultats positifs sur des tests *in vitro* et *in vivo* (IARC, 2012a). L'exposition à l'arsenic peut être environnementale, par la consommation d'eau potable contaminée (une valeur limite de 10 µg/l est fixée par la directive européenne n° 98/83/CE), d'aliments contaminés (notamment poissons, mollusques, crustacés, riz), ou professionnelle (par inhalation lors de la fabrication d'insecticides, de raticides, d'herbicides, de fongicides...). L'arsenic trivalent et pentavalent, ainsi que les composés inorganiques sont classés dans le groupe 1, alors que les organométalliques (réactions biochimiques réalisées par les bactéries, les algues, ou obtenues par synthèse chimique industrielle) sont classés dans le groupe 2B (IARC, 2012a). Un effet génotoxique suite à la production de ROS représente le mécanisme majeur inducteur de la cancérogenèse avec cassures simple et double-brins de l'ADN.

Amines aromatiques

Le risque de cancer de la vessie est apparu élevé dans les cohortes prospectives AHS et AGRICAN en lien avec certaines expositions agricoles. En particulier des associations avec des pesticides ayant une structure proche d'amines aromatiques (imazéthapyr et imazaquine) ont été observées dans l'AHS, mais des liens ont également été mis en évidence avec d'autres herbicides. Cependant l'imazéthapyr, un herbicide de la famille des imidazolinones est peu toxique chez les animaux et jusqu'à présent aucun effet cancérogène, génotoxique ou mutagène n'a été mis en évidence sur les tests *in vivo* et *in vitro*[55]. L'imazaquine, un autre herbicide de la même famille, est également peu toxique[56]. L'association entre ces deux herbicides et le cancer de la vessie pourrait reposer sur des polymorphismes des enzymes du métabolisme ou de la détoxification par des enzymes anti-oxydantes.

Organochlorés

Concernant le cancer de la vessie, un rôle du DDT est discuté avec une association retrouvée dans la cohorte AHS (Koutros et coll., 2016). Par ailleurs, d'autres auteurs ont montré que le taux sanguin du DDT et de ses métabolites n'était pas associé à ce cancer (Boada et coll., 2016). Le PCP,

55. https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/395.htm#3
56. https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/394.htm#3

un organochloré dont la production et l'utilisation sont interdites dans la plupart des pays depuis 2015 en vertu de la Convention de Stockholm, est suspecté comme cancérogène pour le rein. Ce composé est associé à un risque accru de lymphome non hodgkinien et de sarcome des tissus mous en relation avec l'exposition ce qui a abouti avec les résultats des tests toxicologiques au classement en groupe 1 (cancérogène avéré chez l'être humain) par le Circ (IARC, 2019). Les données de cancérogenèse expérimentale *in vivo* chez les rongeurs indiquent un effet cancérogène du PCP qui est faible et qui ne concerne pas spécifiquement les cancers des voies urinaires (NTP, 1989 ; Chhabra et coll., 1999). Les données issues des tests de mutagenèse et génotoxicité concernant le PCP montrent un effet général positif, et lorsque les tests sont réalisés avec son métabolite principal, le tétrachlorohydroquinone (TCHQ), les effets sont positifs quant à la production d'adduits à l'ADN ou de dommages oxydatifs (tableau 14.II). D'autres mécanismes potentiellement impliqués dans la cancérogenèse du PCP incluent *i*) un faible effet anti-œstrogénique sur les cellules co-exposées à l'œstradiol (effet qui devrait être exploré pour préciser son rôle dans la cancérogenèse), *ii*) une altération de la prolifération et des voies apoptotiques, *iii*) un effet pro-inflammatoire et immunosuppresseur (IARC, 2019).

Tableau 14.II : Tests de toxicité sur le pentachlorophénol et son métabolite, le tétrachlorohydroquinone

Tests	Références
Études démontrant l'absence des effets toxiques du PCP	
Tests de mutagenèse bactérienne	Czaplicka et Mielżyńska, 2007
Essai *in vitro* de mutation du locus de HPRT	Hattula et Knuutinen, 1985 ; Jansson et Jansson, 1986
Essai d'échange de chromatides sœurs	Ziemsen et coll., 1987
Micronoyau chez les amphibiens	Venegas et coll., 1993
Études indiquant des effets toxiques du PCP	
Aberrations chromosomiques sur les cellules V79	Stang et Witte, 2010
Conversion génique (levure)	Fahrig, 1974 ; Fahrig et coll., 1978
Détection de la 8-oxo-dG dans le foie de rongeurs après exposition *per os*	Sai-Kato et coll., 1995 ; Umemura et coll., 1999 ; Lin et coll., 2002 ; Tasaki et coll., 2013
Études indiquant des effets toxiques du TCHQ	
Adduits dichlorobenzoquinone-1,N2-etheno-2'-deoxyguanosine	Nguyen et coll., 2005
Cassure d'ADN et accumulation de p53 avec systèmes cellulaires *in vitro* ou fibroblastes embryonnaires de souris *in vivo*	Witte et coll., 1985 ; Ehrlich, 1990 ; Wang et coll., 1997
Cassures d'ADN (technique élution alcaline) et induction de 8-oxoG sur cellules V79	Dahlhaus et coll., 1995
Cytotoxicité, cassures d'ADN et apoptose dans une lignée cellulaire de cancer de la vessie	Wang et coll., 2000

PCP : pentachlorophénol ; TCHQ : tétrachlorohydroquinone

Organophosphorés

Aucune étude épidémiologique n'a montré d'association avec les organophosphorés, sauf une dans laquelle ceux-ci font partie de l'ensemble des pesticides étudiés (Matic et coll., 2014). Une étude de 2012, conduite sur des rats, relève un effet plus important du malathion sur l'apparition d'anomalies rénales pré-cancéreuses en cas de co-exposition au 17β-œstradiol (Alfaro-Lira et coll., 2012).

Dérivés chlorophénoxy

Quelques études épidémiologiques mentionnent une association entre le cancer de la vessie et le 2,4-D ou le 2,4,5-T (Koutros et coll., 2016). Ces dérivés sont classés comme agents « peut-être cancérogènes » (groupe 2B) par le Circ (IARC, 1987 ; IARC, 2018) mais généralement classés groupe D (*Not Classifiable as to Human Carcinogenicity*) par l'Agence américaine de protection de l'environnement ou non classés par l'Agence européenne des produits chimiques. Ce sont pour la plupart des composés hautement toxiques pour l'environnement et pour certains il est avancé un effet perturbateur endocrinien.

Essais de génotoxicité ou mutagenèse in vitro

Les résultats de ces essais sont généralement négatifs avec cependant quelques résultats qui orientent vers un effet génotoxique en rapport avec l'induction d'un stress oxydant dont les résultats positifs sont présentés dans le tableau 14.III.

Tableau 14.III : Tests positifs de génotoxicité ou mutagenèse *in vitro* pour les chlorophénoxy

Tests	Références
Essai des comètes (cassures d'ADN simple et double-brins)	
2,4-D	González et coll., 2005 ; Maire et coll., 2007 ; ATSDR, 2017
MCPA	Bokan et coll., 2013
DM	Ünal et coll., 2011
Induction de chromatides sœurs	
2,4-D	Korte et Jalal, 1982 ; Madrigal-Bujaidar et coll., 2001 ; Holland et coll., 2002 ; González et coll., 2005
DM	Ünal et coll., 2011

Aberrations chromosomiques	
2,4-D	Mustonen et coll., 1986
2,4,5-T	Galloway et coll., 1987
DM	Ünal et coll., 2011
Autres essais	
Augmentation de l'index réplicatif de lymphocytes issus de travailleurs exposés au 2,4-D ou *in vitro* suite à une exposition à faible dose	Figgs et coll., 2000 ; Holland et coll., 2002
Immunotoxicité du 3,4-DCPA chez la souris avec effet sur la réponse humorale	Barnett et Gandy, 1989 ; Cuff et coll., 1996 ; Xie et coll., 1997
Impact sur la régulation du récepteur Ah testé *in vitro* avec une exposition au 3,4-DCPA	Takeuchi et coll., 2008

2,4-D : Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (n° CAS 94-75-7) ; 2,4,5-T : Acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique (n° CAS 93-76-5) ; 3,4-DCPA : N-(3,4-dichlorophényl) propanamide (propanil ; n° CAS 709-98-8) ; DM : Acide (méthyl)-2-[4-(2,4-dichloro-phénoxy) phénoxy] propionique (diclofop-méthyl ; n° CAS 51338-27-3) ; MCPA : Acide 4-chloro-2-méthylphénoxyacétique (n° CAS 94-76-4).

Essais de cancérogenèse expérimentale in vivo

Ces essais aboutissent pour certains dérivés à des résultats positifs mais ambigus en raison d'une contamination par des impuretés dioxines/furanes classés comme cancérogènes. C'est en particulier le cas du 2,4-D et 2,4,5-T. Les résultats de cancérogenèse expérimentale *in vivo* chez les rongeurs sont résumés dans le tableau 14.IV.

Tableau 14.IV : Tests de cancérogenèse expérimentale chez les rongeurs pour les chlorophénoxy

Études	Références
Résultats montrant l'absence d'effets cancérogènes	
2,4-D	Charles et coll., 1996 ; ATSDR, 2017
2,4-DB	Charles et Leeming, 1998
Dalapon	USEPA, 1992
2,4-DP	USEPA, 2007a
MCPA	Bellet et coll., 1999 ; Bellet et coll., 2001
MCPP	USEPA, 2003 ; USEPA, 2007b
2,4,5-T	IARC, 1977 ; Kociba et coll., 1979
Résultats ambigus, avec induction d'autres cancers mais pas le cancer du rein	
2,4,5-TP	USEPA, 1988
3,4-DCPA	USEPA, 1987

2,4-DB : Acide 4-(2,4-dichlorophénoxy) butyrique (n° CAS 94-82-6) ; Dalapon : Acide 2,2-dichloropropionique (n° CAS 75-99-0) ; 2,4-DP : Acide 2-(2,4-dichlorophénoxy) propanoïque (Dichlorprop ; n° CAS 120-36-5) ; MCPP : Acide 2-(4-chloro-2-méthylphénoxy) propionique (mécoprop ; n° CAS 93-65-2) ; 2,4,5-TP : Acide 2-(2,4,5-trichloro-phénoxy) proprionique (fénoprop ; n° CAS 93-72-1). Les abréviations des autres composées sont indiquées dans le tableau 14.III.

En résumé, les résultats des tests de génotoxicité et de mutagenèse *in vitro* pour les dérivés chlorophénoxy sont généralement négatifs, sauf pour quelques essais (positifs pour le 2,4-D, MCPA, DM, et 2,4,5-T). En ce qui concerne les tests de cancérogénèse *in vivo*, malgré quelques incertitudes dues souvent à des essais mal conduits (une seule dose, nombre d'animaux insuffisant pour obtenir une conclusion statistiquement significative, contamination), les dérivés chlorophénoxy ne présentent pas d'effet cancérogène chez les rongeurs sur la base des données fournies par les industriels.

Conclusion

Bien que les agriculteurs soient globalement moins à risque de cancers des voies urinaires que la population générale, principalement en raison d'un moindre tabagisme, des associations avec des expositions aux pesticides ont été mises en évidence.

Dans les cohortes prospectives AHS et AGRICAN, une élévation du risque de cancer de la vessie a été observée (RR ou HR entre 1,89 et 3,82) en lien avec certaines expositions agricoles à des pesticides. En particulier des associations avec des pesticides ayant une structure d'amine aromatique (imazéthapyr et imazaquine) ont été montrées dans l'AHS, mais des liens ont également été mis en évidence avec d'autres herbicides et le DDT. Cependant, jusqu'à présent aucun effet cancérogène, génotoxique ou mutagène n'a été mis en évidence pour l'imazéthapyr par des tests *in vivo* ou *in vitro*, et l'imazaquine n'est pas cancérogène chez le rat. L'association entre ces deux herbicides et le cancer de la vessie chez l'être humain pourrait reposer sur des polymorphismes des enzymes du métabolisme ou de la détoxification par des enzymes anti-oxydantes. Les données fournies par l'AHS sur le cancer de la vessie (Rusiecki et coll., 2004 ; Koutros et coll., 2016) suggèrent que le mode de calcul de l'exposition (nombre de jours d'exposition cumulés ou intensité de l'exposition) ainsi que certains facteurs individuels (tabagisme, polymorphismes génétiques) influencent les associations avec des molécules spécifiques.

À cette étape, aucune molécule spécifique n'a été étudiée dans la cohorte AGRICAN, mais des élévations de risque ont été observées chez les cultivateurs, plus marquées chez les femmes, et avec une relation durée-effet. Sept études cas-témoins sur les 8 menées étaient en cohérence avec les résultats de ces cohortes, et montraient des élévations de risque avec des expositions professionnelles aux pesticides dans l'industrie (Zahm et coll., 1987) ou en agriculture (Akdaş et coll., 1990 ; La Vecchia et coll., 1990 ; Cassidy et coll.,

2009 ; Amr et coll., 2015) ou l'exposition domestique (Jackson et coll., 2017). Par ailleurs, deux études cas-témoins et deux études écologiques suggèrent une augmentation du risque en population générale en lien avec la consommation d'une eau de boisson potentiellement contaminée par des dérivés arsenicaux agricoles (Baris et coll., 2016), ou avec la proximité résidentielle par rapport à des zones agricoles (Viel et Challier, 1995 ; Wesseling et coll., 1999 ; Cornelis et coll., 2009). Quelques études se sont intéressées au rôle de polymorphismes génétiques dans l'association entre pesticides et cancer de la vessie. Elles ont en particulier porté sur des gènes codant des enzymes impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques comme les glutathion S-transférases, les N-acétyl-transférases ou les cytochromes P450, et suggéré l'existence de certaines susceptibilités individuelles pouvant jouer un rôle dans la survenue de ce cancer en lien avec les expositions aux pesticides.

Les données épidémiologiques sur le cancer du rein sont moins nombreuses. Dans la cohorte AHS, quelques analyses pour des molécules spécifiques suggèrent des élévations modérées de risque parmi les plus exposés, mais la puissance statistique ne permet généralement pas de conclure. Une cohorte rétrospective portant sur les travailleurs des scieries a mis en évidence des élévations de risque de cancer du rein en lien avec l'exposition au PCP. Les études toxicologiques ne rapportent pas de risque d'induction de cancer du rein ou de la vessie mais ce composé est cependant classé 1 par le Circ depuis 2016 (tumeurs hématopoïétiques). Trois études cas-témoins de grande taille (deux d'entre elles portant sur plus de 1 000 cas) ont mis en évidence des élévations significatives de risque pour diverses catégories de produits : créosotes, herbicides, pesticides, avec parfois des relations durée-effet.

Tableau 14.I : Études sur le lien entre exposition aux pesticides et les cancers de la vessie et du rein

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Koutros et coll., 2016 États-Unis (Caroline du Nord et Iowa)	Cohorte prospective *Agricultural Health Study*	Applicateurs de pesticides n = 54 344 recrutés en 1993-97 (femmes exclues car un seul cas)	Cancers de la vessie incidents entre 1993 et 2010/2011 n = 321 cas (dont 307 carcinomes urothéliaux parmi lesquels 272 étaient localisés)	Variable selon les molécules	Questionnaire sur l'exposition professionnelle à 50 pesticides, dont les amines aromatiques imazaquine et imazéthapyr (44 avec assez d'information pour évaluer l'exposition cumulée) Durée et fréquence (nombre de jours par an) : nombre de jours dans la vie Index cumulé prenant en compte l'intensité et la durée d'exposition Prise en compte d'une latence de 15 ans	Exposition aux émissions diesel, soudage, peinture, métaux Âge, sexe, ethnie, tabagisme Autres pesticides	**Association positive avec** Bentazone 1,55 [1,10-2,19]* Bromoxynil 1,51 [1,04-2,20]* Chlorambène 1,56 [1,10-2,22]* Diclofop-méthyl 1,85 [1,01-3,42]* Imazaquine 1,54 [1,05-2,26]* 2,4-D 1,46 [0,98-2,18] Séthoxydime 0,65 [0,43-1,00] DDT 1,40 [1,10-1,80]* Heptachlore 1,30 [0,98-1,74] **Relation dose-effet/ nombre de jours avec** 2,4,5-T (T3) 2,64 [1,23-5,68]* 2,4-D (Q4) 1,88 [0,94-3,77] Glyphosate (Q4) 1,93 [0,95-3,91] Imazéthapyr (Q4) 3,03 [1,46-6,29]* **Relation dose-effet/index cumulé avec** Aldicarbe (M2) 4,04 [1,20-13,57]* Carbofuran (T2) 1,99 [1,06-3,75]* Chlordane (T3) 2,83 [1,16-6,90]* Toxaphène (M2) 3,75 [1,57-8,97]* Fonofos (T3) 2,01 [1,01-4,00]* Perméthrine (M2) 2,28 [1,08-4,82]* **Interaction avec le tabagisme** pour le carbofuran et le chlorpyrifos **Relations plus marquées chez les non-fumeurs**

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Rusiecki et coll., 2004 États-Unis (Caroline du Nord et Iowa)	Cohorte prospective *Agricultural Health Study*	Applicateurs de pesticides n = 53 943 recrutés en 1993-97, et données renseignées	Cancers incidents entre 1993/1997 et 2004 (tous sites) n = 47 cancers de la vessie et n = 40 cancers du rein	68 % d'utilisateurs d'atrazine	Exposition à l'atrazine Index cumulé prenant en compte la durée d'exposition et l'intensité (à partir des tâches, des EPI, des réparations du matériel)	Âge, sexe, niveau d'études, alcool, ATCD familiaux de cancer, État de résidence, tabagisme	**Index cumulé (durée en jours x intensité)** **Vessie** 4e quartile RR = 3,06 [0,86-10,81] **Rein** Tendance non significative à une diminution du risque
Koutros et coll., 2009 États-Unis (Caroline du Nord et Iowa)	Cohorte prospective *Agricultural Health Study*	Applicateurs de pesticides n = 49 398 recrutés en 1993-97, et données renseignées	Cancers incidents entre 1993/1997 et 2004 (tous sites) n = 122 cancers de la vessie et n = 86 cancers du rein	42 % des applicateurs rapportaient une exposition à l'imazéthapyr En moyenne 8,8 jours par an et 4,2 années	Exposition à l'imazéthapyr (données manquantes n = 6 544) Index cumulé prenant en compte la durée d'exposition et l'intensité (à partir des tâches, des EPI, des réparations du matériel)	Âge, sexe, État de résidence, année d'inclusion, niveau d'études, ATCD personnels et familiaux de cancer, alcool, tabagisme, IMC... Autres pesticides	**Index cumulé (durée en jours x intensité)** **Vessie** 3e tercile (moitié basse) RR = 1,29 [0,58-2,86] 3e tercile (moitié haute) RR = 2,37 [1,20-4,68] **Rein** 3e tercile RR = 0,91 [0,46-1,79]
Beane-Freeman, 2011 États-Unis (Caroline du Nord et Iowa)	Cohorte prospective *Agricultural Health Study*	Applicateurs de pesticides n = 53 662 recrutés en 1993-97, et données renseignées	Cancers incidents entre inclusion et 2007 Chez les exposés : n = 141 cancers de la vessie et n = 99 cancers du rein	Utilisation d'atrazine par 70 % des applicateurs privés (et 50 % des applicateurs commerciaux)	Information sur l'atrazine recueillie par questionnaire (parmi une liste de 50 pesticides) Durée et fréquence (nombre de jours par an) : nombre de jours dans la vie Index cumulé prenant en compte l'intensité et la durée d'exposition	Âge, sexe, niveau études, alcool, ATCD familiaux de cancer, tabagisme (paquets années), Etat de résidence Ajustement plus précis sur le tabac que la publication de Rusiecki et coll., 2004	Globalement pas de lien entre l'exposition à l'atrazine et la survenue de cancer **Cancer de la vessie** : pas d'élévation de risque avec l'index cumulé prenant en compte l'intensité, ni avec le nombre de jours d'exposition **Cancer du rein** : légère augmentation non significative dans le 4e quartile avec le nombre de jours d'exposition RR = 1,21 [0,69-2,13]

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Jones et coll., 2015 États-Unis (Caroline du Nord et Iowa)	Cohorte prospective *Agricultural Health Study*	Cohorte prospective, inclusion 1993-97 n = 57 311 dont 22 830 hommes avec données disponibles Suivi jusqu'en 2010 (Caroline du Nord) et 2011 (Iowa)	Incidence de cancers par croisement avec les registres de cancer + bases sur les décès n = 164 cancers de la vessie et n = 94 cancers du rein	22 % d'utilisateurs de la molécule dans la cohorte, en moyenne 14 jours par an chez les applicateurs commerciaux et 6 jours par an chez les applicateurs privés	Diazinon : nombre d'années et nombre de jours par an Nombre de jours au cours de la vie ; Score prenant en compte l'intensité (à partir des tâches, des EPI, des réparations du matériel)	Âge, niveau d'études, État, ATCD familiaux de cancer, tabac, alcool Ajustement sur d'autres pesticides corrélés au diazinon	**Cancer de la vessie** : pas d'association mise en évidence **Cancer du rein** : RR = 1,37 [0,64-2,92] 3e tercile du score d'intensité RR = 1,77 [0,90-3,51] 3e tercile du nombre de jours
Kang et coll., 2008 États-Unis (Caroline du Nord et Iowa)	Cohorte prospective *Agricultural Health Study*	Inclusion 1993-97 et suivi jusqu'en 2002 n = 57 311 dont 22 830 hommes avec données disponibles	Incidence de cancers par croisement avec les registres de cancer + bases sur les décès n = 63 cancers du rein et n = 86 cas cancers de la vessie	51 % d'utilisateurs de la trifluraline dans la cohorte	Trifluraline : nombre d'années et nombre de jours par an Nombre de jours au cours de la vie ; score prenant en compte l'intensité (à partir des tâches, des EPI, des réparations du matériel)	Âge, niveau d'études, État, ATCD familiaux de cancer, tabac, alcool Ajustement sur dicamba, métolachlore, imazéthapyr, métribuzine, cyanazine	**Cancer de la vessie** : RR = 2,09 [0,65-6,69] dans le 3e tercile du score d'intensité RR = 1,52 [0,54-4,30] dans le 3e tercile du nombre de jours **Cancer du rein** : RR = 1,51 [0,59-3,89] dans le 3e tercile du score d'intensité RR = 1,52 [0,54-4,30] dans le 3e tercile du nombre de jours

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Boulanger et coll., 2017 France	Cohorte Prospective AGRICAN	Affiliés MSA inclus en 2005-07 dans 11 départements Suivi jusqu'en décembre 2009 n = 148 051 Exposés à une culture/élevage ou à une tâche *versus* non exposés + période d'utilisation des arsenicaux	Cancers de la vessie n = 179 Tumeurs urothéliales (85,5 %) Croisement avec les fichiers de décès et les registres de cancer	Exposition aux animaux de ferme : de 10 % (chèvres) à 58 % (bovins) Exposition aux cultures : blé 36 %, vigne/ maïs /pommes de terre : 20-30 % 33 % utilisent des pesticides sur culture, 25 % sur animaux	Auto-questionnaire postal Historique de 13 cultures et 5 élevages et de certaines tâches (dont les traitements par pesticides) Analyse en Oui/Non, durée, et surfaces/nombre d'animaux Prise en compte de la période pour les vignes, les pommes de terre et l'arboriculture en lien avec les usages d'arsenicaux	Tabagisme (y compris le nombre de paquets-années ; la durée), sexe	**Cultivateurs** : Tous HR = 1,89 [1,20-2,99] (tendance significative avec la durée) Femmes HR = 3,82 [1,58-9,25]* Non-fumeurs HR = 2,64 [1,39-5,02]* Sous serre HR = 1,95 [0,95-4,01] Culture de pois HR = 1,50 [0,84-2,67] Usage de pesticides sur les pois HR = 1,69 [0,74-3,87] Augmentations plus modestes avec tournesol et colza Pas de lien clair dans les cultures utilisatrices d'arsenicaux mais élévation du risque pour les personnes lors de la réentrée en vignes
Demers et coll., 2006 Canada (Colombie-Britannique)	Cohorte rétrospective	Ouvriers de 14 scieries, hommes, n = 27 464 Inclusion : 1950 – Suivi jusqu'en 1995 par croisement avec bases de données nationales Référence externe : population générale de la province	Mortalité et incidence pour un ensemble de cancers dont cancer de la vessie (43 décès et 143 cas incidents) et cancer du rein (30 décès et 79 cas incidents)		Histoire professionnelle complète de chaque participant Historique d'utilisation des chlorophénols dans chaque scierie Historique des process Calcul d'un nombre cumulé d'heures d'exposition cutanée aux chlorophénols Exposition au TCP et PCP Comparaisons internes par rapport aux moins exposés Latence de 10 à 20 ans	Âge Sexe Statut de travailleur agricole Valeur de l'activité cholinestérase sérique Pas d'ajustement sur le tabac mais pas de différence du tabagisme observée dans un sous-échantillon	**Cancer de la vessie** : pas de lien **Cancer du rein** : Chlorophénols SMR = 1,31 [0,98-1,73] SIR = 1,10 [0,88-1,38] *Analyses internes (durée)* Mortalité > 5 ans RR = 1,64 [0,80-3,37] Incidence > 5 ans RR = 1,04 [0,59-1,83] **Cancer du rein** : PCP SMR = 2,30 [1,00-5,32] SIR = 1,66 [0,85-3,23] *Analyses internes (durée)* Mortalité > 5 ans RR = 1,75 [0,89-3,40] Incidence > 5 ans RR = 1,80 [0,87-3,73] **Cancer du rein** : TCP SMR = 1,87 [0,75-4,67] SIR = 1,80 [0,94-3,43] *Analyses internes (durée)* Mortalité > 5 ans RR = 1,71 [0,75-3,88]

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Rafnsson, 2006 Islande	Cohorte rétrospective	Inclusion 1962-80 Éleveurs de moutons effectuant le trempage insecticide avec du lindane n = 7 882 hommes et 429 femmes Comparaison à la population générale	Incidence d'un ensemble de cancers dont cancer de la vessie (n = 95) et cancer du rein (n = 80) Croisement avec le registre islandais des cancers	Tous dans le groupe étudié	Avoir trempé des moutons dans le lindane	Non	**Cancer du rein** : SIR = 0,69 [0,55-0,86] chez les hommes SIR = 1,02 [0,28-2,62] chez les femmes **Cancer de la vessie** : SIR = 0,61 [0,49-0,75] chez les hommes SIR = 0,30 [0,00-1,70] chez les femmes
Zahm et coll., 1987 États-Unis (Atlanta, Connecticut, Detroit, Iowa, Los Angeles, New-Jersey, Nouvelle-Orléans, San Francisco, Seattle, Utah)	Cas-témoins en population générale	Cas : cancer de la vessie à partir de 1977, âgés de 21 à 84 ans (n = 2 982) Témoins : 2 par cas, tirés au sort en population générale dans les 10 zones (listes téléphone pour les < 65 ans et assurance maladie pour les 65 à 84 ans) (n = 5 782)	Sélection des 190 cas de cancer de la vessie ayant travaillé dans l'industrie chimique et 369 témoins		Entretien en face à face Histoires professionnelles et résidentielles : sélection des individus ayant travaillé dans le secteur de l'industrie chimique, laboratoire de recherche et développement, industrie du caoutchouc, industrie textile, manufacture de munitions	Caractéristiques socio-démographiques, boissons, ATCD médicaux, tabagisme, sucres artificiels, coloration cheveux	Globalement pas d'association entre le travail dans l'industrie chimique et le **cancer de la vessie** Chez les hommes, dans l'industrie de fabrication de pesticides : OR = 2,3 [0,6-8,2]

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Akdaş et coll., 1990 Turquie	Cas-témoins hospitaliers	Cas : n = 194 (168 hommes et 26 femmes) dans 2 hôpitaux turcs entre 1980-87 Témoins appariés sur l'hôpital, l'âge et le sexe ; sans ATCD de tumeur ou hématurie (urographie ou cystoscopie)	Cancer de la vessie primaire ou récidive Diagnostic histologique	Non précisée	Questionnaire : utilisation agricole d'insecticides ou d'engrais chimiques	Café, thé, alcool	Risque de **cancer de la vessie** augmenté chez les utilisateurs d'engrais chimiques et d'insecticides $p < 0,01$ (Pas d'autres détails)
La Vecchia et coll., 1990 Italie du Nord	Cas-témoins hospitaliers	Cas hospitaliers, région de Milan (n = 263) Témoins hospitaliers non atteints de tumeurs (traumatismes, maladies aiguës), dans les mêmes hôpitaux (n = 287)	Cancers de la vessie : tumeurs invasives	Exposition aux herbicides > 10 ans : 3 % chez les cas et 0,7 % chez les témoins	Historique professionnel et résidentiel Questions sur des secteurs professionnels ciblés (n = 19) et des nuisances (n = 14)	Caractéristiques socio-démographiques, tabac, alcool, alimentation, ATCD médicaux et médicamenteux	Risque lié aux herbicides Utilisation > 10 ans : OR = 4,4 ; IC 90 % [1,3-14,6]

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Settimi et coll., 2001 Italie (Asti, Pescia, Pistoia, Grosseto, Imola)	Cas-témoins hospitaliers multicentrique	Hommes 20 à 75 ans Cas : Diagnostic en 1990-92, ~15 types de cancers dont vessie et rein, dans 5 hôpitaux de district, + Turin, Pise, Sienne n = 1 279 Témoins : autres cancers sauf poumon et vessie (pour rein) ; sauf poumon et rein (pour vessie)	Cancers de la vessie (n = 170) et cancers du rein (n = 39)	31,2 % d'agriculteurs parmi les cas de cancers de la vessie 46 % d'agriculteurs parmi les cas de cancers du rein	Entretien en face à face Pour les agriculteurs, questions sur les pesticides et équipements de protection, caractéristiques des exploitations Détails sur les cultures (périodes, surfaces, maladies des cultures, tâches)	Tabac, alcool, ATCD familiaux de cancer, alimentation	Agriculteurs utilisant les pesticides : **Cancer de la vessie** OR = 0,9 [0,4-1,8] **Cancer du rein** OR = 1,0 [0,3-3,4] Élévation non significative du risque de **cancer du rein** en arboriculture OR = 2,1 [0,8-5,3]
Cassidy et coll., 2009 États-Unis (Texas)	Cas-témoins hospitaliers	Cas : incidents à partir de 1999 (ni chimiothérapie ni radiothérapie) (n = 604) Témoins : réseau de cliniques et praticiens (bilans annuels), appariés (fréquence) sur âge (± 5 ans), sexe, ethnie (n = 604)	Cancers de la vessie avec confirmation histologique		Historique professionnel avec les tâches, le matériel, les produits chimiques utilisés	Caractéristiques socio-démographiques, habitudes de vie dont le tabagisme, ATCD familiaux de cancer	Métiers en agriculture générale OR = 1,51 [0,79-2,89] OR = 9,58 [2,18-42,05] > 10 ans Élevage OR = 1,90 [1,03-3,49] OR = 6,18 [2,09-18,29] > 10 ans Agroalimentaire OR = 3,36 [1,10-10,27] > 10 ans

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Hu et coll., 2002 Canada (8 provinces)	Cas-témoins *National Enhanced Cancer Surveillance System*	Cas incidents entre 1994-97 (n = 1 279) Témoins : bases admin., listes téléphoniques (selon provinces), appariés sur l'âge (±5 ans), sexe et province (n = 5 380)	Cancers du rein Données de Cancer du Système National de Surveillance	Taux d'exposition (cas et témoins) aux : Sels d'arsenic : < 1 % Créosote/ asphalte : 8 % Herbicides : 9 % Pesticides : 11 %	Questionnaires professionnels incluant des nuisances spécifiques dont : sels d'arsenic, créosote, herbicides, pesticides Prise en compte des expositions d'un an et plus Durée	Données socio-économiques, histoire des emplois et résidentiel Taille, poids, tabac, alcool alimentation, activité physique ATCD familiaux	Hommes : Arsenicaux OR = 1,5 [0,8-2,8] Créosote OR = 1,4 [1,1-1,8]* Herbicides OR = 1,6 [1,3-2,0]* Pesticides OR = 1,8 [1,4-2,3]* Femmes : Créosote OR = 1,3 [0,7-2,3] Herbicides OR = 0,8 [0,5-1,3] Pesticides OR = 1,3 [0,9-1,8] Hommes exposés aux herbicides : 1-15 ans OR = 1,3 [0,9-1,8] > 15 ans OR = 2,0 [1,4-2,7]*
Mellemgaard et coll., 1994 Danemark	Cas-témoins en population générale	Cas incidents 1989-92 (n = 368) Témoins du registre de population général (n = 396)	Cancers du rein identifiés par le registre danois des cancers 20 à 79 ans	6 % exposés professionnellement aux insecticides ou herbicides	Latence de 10 ans	Niveau d'études, emplois, expositions à des facteurs de risque professionnels, traitements médicamenteux, tabagisme ; ATCD médicaux, alimentation	Hommes : Herbicides OR = 1,7 [0,7-4,3] Insecticides OR = 2,2 [0,8-6,3] Herbicides ou Insecticides > 20 ans : OR = 3,9 [1,0-15] Femmes : Herbicides OR = 5,7 [0,6-58] Insecticides OR = 5,7 [0,6-58] Herbicides ou Insecticides > 20 ans : OR = 2,3

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Karami et coll., 2008 Europe Centrale et de l'Est	Cas-témoins hospitaliers	Cas incidents 1999-2003 (n = 1 097) Témoins hospitaliers, appariement de fréquence ± 3 ans, sexe, lieu (n = 1 476)	Cancers du rein avec confirmation histologique	Exposition aux pesticides : 4 % Plus de 8 années : 2,5 %	Types de pesticides : organiques/inorganiques Durée, probabilité, fréquence et intensité de l'exposition Expertise des expositions par des hygiénistes industriels Exposition cumulée/exposition moyenne	Données socio-démographiques, ATCD familiaux, tabagisme, alimentation Histoire professionnelle et questionnaire spécifique sur les pesticides Génotypes	Exposition aux pesticides : OR = 1,6 [1,00-2,55] OR = 1,82 [1,10-3,00] (sous-groupe d'expositions les plus certaines) OR = 2,46 [1,33-4,58] > 8 ans OR = 2,07 [1,11-3,88] > 1 230 h Génotypes *GSTM1 et GSTT1* « actifs » : OR = 6,47 [1,82-23,00]
Zarzour et coll., 2008 Haute-Égypte	Cas-témoins hospitaliers multicentrique	Cas incidents en 2005, *South Egypt Cancer Institute*, (n = 130) Témoins : visiteurs sains de l'institut, appariés sur âge, sexe, lieu de résidence (n = 260)	Cancers de la vessie avec confirmation histologique et opérés		Questionnaire sur l'exposition aux pesticides (pas de détail)	Âge, sexe, métier, lieu de résidence, ATCD de bilharziose, tabagisme, cystite chronique, calculs rénaux, ATCD familiaux de cancer, exposition aux produits chimiques, irradiation pelvienne, cyclophosphamide, consanguinité	Exposition aux pesticides : OR = 6,2 [3,5-11,3]

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Jackson et coll., 2017 Égypte	Cas-témoins hospitaliers multicentrique	Cas : femmes de 19 à 80 ans diagnostiquées dans 3 centres de référence en Égypte en 2006-14 (n = 454) Témoins : femmes proches des cas ou patientes de cliniques (mêmes zones). Appariement de fréquence sur âge (± 5 ans), zone de résidence (n = 824)	Cancers de la vessie Confirmation histologique : tumeurs urothéliales, carcinomes épidermoïdes, adénocarcinomes		Exposition para-professionnelle des femmes d'agriculteurs Exposition environnementale au domicile et au travail Métier du conjoint ou du chef de famille (en grandes catégories) : agriculteur : oui/non	Statut marital, niveau d'études, métier, histoire du tabagisme actif et passif Vie reproductive ACTD de schistosomiase et d'infections urinaires	Chez les femmes dont le chef de famille était agriculteur/non agriculteur Cancer de la vessie OR = 1,26 [0,94-1,68] Tumeurs uroépithéliales OR = 1,34 [0,91-1,99] Carcinomes épidermoïdes OR = 1,28 [0,89-1,99] Chez les femmes mariées dont le chef de famille était agriculteur/non agriculteur Cancer de la vessie OR = 1,54 [1,09-2,18] Tumeurs uroépithéliales OR = 1,66 [1,03-2,69] Carcinomes épidermoïdes OR = 1,53 [0,99-2,38]
Amr et coll., 2015 Égypte	Cas-témoins hospitaliers multicentrique	Cas : recrutés dans 3 centres de traitement du cancer en 2006-11 (n = 1 525 dont 953 inclus) Témoins : tirés au sort, appariement de fréquence sur, âge (± 5 ans), sexe, lieu de résidence (n = 2 069 dont 881 inclus)	Cancers de la vessie Tumeurs primitives urothéliales ou carcinomes épidermoïdes. Diagnostic histologique.	Analyses restreintes aux cas agriculteurs 56,7 % exposés aux pesticides chez les cas et 51,3 % chez les témoins Durée d'exposition : 35,3 ans chez les cas et 29,1 ans chez les témoins	Entretien en face à face Histoires professionnelles et résidentielles Exposition aux pesticides : fréquence, durée	Rôle de polymorphismes génétiques en lien avec le stress oxydant (pour 419 cas et 358 témoins : *NQO1* : rs1800566 (C>T) et *SOD2* : *rs4880 (C>T)* Tabagisme (actif et passif), ATCD médicaux y compris infections, niveau d'études	Globalement OR = 1,16 [0,95-1,41] Dans échantillon analysé OR = 1,68 [1,23-2,29]* (tendance significative avec la durée et avec la fréquence) OR = 2,18 [1,62-2,95]* > 40 ans Tumeurs urothéliales : OR = 1,26 [1,01-1,58]* *NQO1* (TT/TC) : OR = 1,94 [1,20-3,14] *SOD2* (CC) : OR = 1,74 [1,02-2,99] *NQO1* (TT/TC) et *SOD2* (CC/TC) : OR = 2,14 [1,19-3,85]

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Matic et coll., 2014 Serbie	Cas-témoins hospitaliers	Hôpital de Belgrade Cancer de la vessie incident entre 2007-10 (n = 143) Témoins : patients du même centre, même période, hospitalisés pour des lithiases urinaires (n = 114)	Cancers de la vessie avec confirmation histologique	Exposition aux pesticides : 10 % chez les cas et 8 % chez les témoins	Histoire professionnelle : métier et secteur, vie entière Exposition aux pesticides : organophosphorés, carbamates, aminophosphonates, chloroacétanilides, dérivés de l'acide benzoïque	Histoire du tabagisme (paquets années) Exposition aux solvants organiques Polymorphismes des gènes codant pour les isoformes de glutathion S transférase : *GSTA1 GSTM1*, *GSTP1*, *GSTT1*	Exposition aux pesticides : OR = 3,5 [0,9-12,9] L'allèle *GSTM1* amorphe (« nul ») augmente le risque de **cancer de la vessie.** Interactions polymorphismes de GST et expositions professionnelles *GSTT1* « actif » et exposition aux pesticides : OR = 4,5 [0,9-22,5] Effet moins net qu'avec les solvants
Boada et coll., 2016 Espagne (Îles Canaries)	Cas-témoins hospitaliers	Zone couverte par le CHU soit 395 155 personnes Cas n = 140 inclus entre 2007-09 (prévalents et incidents) Témoins n = 168, sélectionnés dans les services de chirurgie	Cancers de la vessie avec confirmation histologique	18,6 % d'agriculteurs chez les cas et 13,6 % chez les témoins (p = 0,210)	Questionnaire sur les usages de pesticides Dosages sanguins des organochlorés et métabolites : p,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD Hexachlorobenzène, isomères de HCH, aldrine, dieldrine, heptachlore, *cis*-chlordane, *trans*-chlordane, endosulfan, méthoxychlore, mirex	Calendrier professionnel, consommation de café, tabagisme Sur 119 patients et 110 témoins : polymorphismes génétiques : *GST-M1* et *GST-T1*	Pas de différence de détection des organochlorés chez les cas et les témoins HCH OR = 0,929 [0,865-0,997] HCH chez *GST-T1* « nul » OR = 0,930 [0,990-1,055]

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Sharma et coll., 2013 Inde	Cas-témoins hospitaliers	Cancer de la vessie dans un hôpital de Dehli entre janvier 2011 et avril 2012 (n = 50) Témoins : volontaires en bonne santé vivant dans le même environnement et avec les mêmes habitudes de vie (n = 50)	Cancers de la vessie avec diagnostic médical incluant histologie	Valeurs de pesticides en ppb dans le sang Exemples : β-HCH 3,3 chez les témoins et 9,7 chez les cas p,p'-DDT 1,04 chez les témoins et 1,70 chez les cas	Mesure sanguine d'organochlorés	Âge, sexe, tabagisme, eau de boisson, alcool, habitudes de vie, alimentation, ... ADN pour analyse génomique : *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP1A1*	Davantage de résidus de HCH et de DDT chez les patients Interaction mise en évidence entre β-HCH et le génotype *GSTT1*
Verma et coll., 2018 Inde	Cas-témoins hospitaliers	Cas : service de chirurgie hôpital de Dehli entre 2012-14 (n = 60) Témoins appariés sur l'âge, sans cancer de la vessie (cystoscopie négative) (n = 60) Exclusion des patients diabétiques ou ATCD de maladie génétique	Cancers de la vessie avec diagnostic médical incluant histologie	β-HCH (ng/ml) Témoins : 3,3 Cas : 8,8 γ-HCH (ng/ml) Témoins : 3,6 Cas : 8,4 p,p'-DDT (ng/ml) Témoins : 1,1 Cas : 1,6	Mesure sanguine d'organochlorés HCH : différents congénères	Analyse de l'expression génique de CYP1A1	Valeurs de HCH et p,p'-DDT plus élevées chez les cas, en particulier pour les tumeurs de haut grade Expression de CYP1A1 plus élevée chez les témoins, et plus basse pour les tumeurs de haut grade Interaction mise en évidence entre l'expression de CYP1A1 et les pesticides en lien avec le nombre d'épisodes d'hématurie

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Baris et coll., 2016 États-Unis (Maine, New Hampshire, Vermont)	Cas-témoins en population générale	Cas : cancers de la vessie incidents, 2001-04, 30 à 79 ans (n = 1 079) Témoins : liste des conducteurs, assurances santé Appariement de fréquence : État, le sexe et l'âge (n = 1 287)	Cancers de la vessie avec diagnostic médical incluant histologie. Tous types y compris carcinomes in situ	Médiane de la concentration en arsenic dans l'eau de boisson : 1 µg/l Médiane de l'apport cumulé en arsenic par eau de boisson : 34,5 mg	Exposition aux arsenicaux (utilisés sur myrtilles, pommes et pommes de terre) en population générale Concentration d'arsenic dans l'eau de boisson et dose cumulée en mg	Origines, tabagisme, profession, chauffage au bois, alimentation, origine et quantité eau de boisson (y compris eau du puits)	Augmentation du risque pour les personnes consommant l'eau du puits, en particulier dans la période où les dérivés arsenicaux étaient utilisés en agriculture. Risque associé à une dose cumulée (estimée) d'arsenic apportée par les boissons (*versus* ≤ 15,7 mg) de : > 483,6 mg OR = 1,60 [0,90-2,87] Avec une latence de 40 ans > 124,8 mg OR = 2,24 [1,29-3,89] relation dose-effet significative
Aschengrau et coll., 1996 États-Unis (Upper Cape Cod, Massachusetts)	Cas-témoins en population générale	Diagnostic entre 1983-86 Cancer de la vessie n = 79, Cancer rein n = 42 Témoins tirés au sort (listes téléphonique, assurance maladie, fichier décès). n = 853 pour vessie n = 778 pour rein	Cancers de la vessie et cancers du rein Registre de cancer de l'État du Massachusetts		Localisation géographique et proximité par rapport aux champs de canneberges (cartes de 1951, 1971 et 1984 : distance de 780 mètres prise en compte) Prise en compte de la latence	Exposition pesticides résidentiels (jardin, termites) Tabagisme actif et passif ATCD d'infections urinaires ou de calcul Histoire de travail dans le caoutchouc, les colorants, le cuir	Cancer de la vessie : OR = 0,5 [0,2-1,3] Cancer du rein : OR = 0,7 [0,2-2,3]

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Cornelis et coll., 2009 Belgique (Limburg)	Cas-témoins en population générale	Cas de cancers de la vessie survenus à partir de 1999 (n = 592) Témoins tirés au sort/registres de population de la province (> 50 ans) Stratification sur municipalité et statut socio-économique	Cancers de la vessie Confirmation histologique		Indicateurs construits avec un système d'information géographique, en considérant la dispersion avec une météo « par défaut » Habiter près de champs Intégration de la dose de pesticides en kg/km^2 basée sur des rapports publiés (catégories : fongicides, herbicides, insecticides), en fonction des cultures Sur une période de 10 ans (1984-2004)	ATCD médicaux, tabagisme vie entière, ATCD familiaux de cancer de la vessie, histoire résidentielle, calendrier professionnel, fréquentiel alimentaire	Élévations de risque modérées et non significatives en lien avec les indicateurs géographiques (dernier tercile *versus* premier) Fongicides OR = 1,26 [0,77-2,05] Herbicides OR = 1,03 [0,63-1,68] Insecticides OR = 1,18 [0,71-1,95] Régulateurs de croissance OR = 1,03 [0,62-1,70] Autres pesticides OR = 1,23 [0,75-2,01]
Viel et coll., 1995 France	Étude écologique	Mortalité par cancer de la vessie entre 1984-86 dans 89 départements français Recensement INSEE 1975-82 pour identifier les agriculteurs de 35 à 74 ans (n = 837 413)	Cancers de la vessie, code 188 de la CIM 9		Index d'exposition aux pesticides : basé sur le nombre de personnes années agriculteurs (ETP) et la proportion de la surface agricole en viticulture, rapporté à la population agricole totale de 35 à 74 ans des départements considérés Prise en compte d'une latence entre l'exposition et la mortalité	Niveau socio-économique, ventes de tabac dans la zone en 1953	Agriculteurs *versus* la population générale : SMR = 0,96 [0,85-1,08] Avec l'index d'exposition aux pesticides RR = 1, 14 [1,06-1,23]*

Tableau 14.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Colli et Kolletis., 2010 États-Unis	Étude écologique	Population générale Identification des cas par les registres de cancer, et des décès par les statistiques nationales	Incidence et mortalité par cancers de la vessie		Exposition aux pesticides et à l'arsenic par l'eau de boisson (eaux de surface)	Absence d'assurance santé, expositions UV, tabagisme	Corrélation significative entre la mortalité chez les hommes et chez les femmes et la consommation d'eau de surface
Wesseling et coll., 1999 Costa Rica	Étude écologique	81 unités géographiques (puis regroupement en 14 régions) Tous les cas de cancers enregistrés entre 1981-93 (> 50 000)	Cancers de la vessie Comparaison aux cas attendus au niveau national (registre des cancers national)	92 % d'utilisateurs de pesticides sur la période 1950-79 Cultures principales : café, canne à sucre, maïs, pois, riz et bananes	Recensement agricole de 1984 : surface agricole, nombre d'hectares traités par culture et par région Calcul d'un index d'exposition aux pesticides intégrant le nombre d'hectares, nombre d'applications moyen, mode d'application	Âge	Excès de différents cancers dont vessie **Cancer de la vessie** : SIR élevés dans 6 régions (significativement dans 2) Analyse avec l'index d'exposition aux pesticides Hommes dans les zones d'exposition élevée : Cancer de la vessie : RR = 1,71 [1,01-2,90] * (34 cas exposés) Cancer du rein : RR = 0,58 [0,27-1,24] (10 cas exposés)

ATCD : Antécédents ; CIM-O : Classification internationale des maladies pour l'oncologie ; DDD : Dichlorodiphényldichloroéthane (n° CAS : 72-54-8) ; DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane (n° CAS : 50-29-3) ; EPI : équipement de protection individuelle ; IMC : Indice de masse corporelle ; M2 : exposition médiane ; β- et γ-HCH : isomères β et γ du hexachlorocyclohexane ; MSA : Mutualité sociale agricole ; PCP : pentachlorophénol ; Q4 : 4e quartile ; RR : risque relatif ; SIR : rapport standardisé d'incidence (*Standardized Incidence Ratio*) ; SMR : rapport standardisé de mortalité (*Standardized Mortality Ratio*) ; T3 : 3e tercile ; TCP : tétrachlorophénol. Les intervalles de confiance donnés entre parenthèses sont les intervalles de 95 %, sauf si indiqué différemment.

RÉFÉRENCES

• Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

•• Étude financée par un industriel des phytosanitaires

Abid A, Ajaz S, Khan AR, *et al.* Analysis of the glutathione S-transferase genes polymorphisms in the risk and prognosis of renal cell carcinomas. Case-control and meta-analysis. *Urol Oncol* 2016 ; 34 : 419.e1-419.e12.

Acquavella J, Olsen G, Cole P, *et al.* Cancer among farmers: a meta-analysis. *Ann Epidemiol* 1998 ; 8 : 64-74. •

Akdaş A, Kirkali Z, Bilir N. Epidemiological case-control study on the etiology of bladder cancer in Turkey. *Eur Urol* 1990 ; 17 : 23-6.

Alfaro-Lira S, Pizarro-Ortiz M, Calaf GM. Malignant transformation of rat kidney induced by environmental substances and estrogen. *Int J Environ Res Public Health* 2012 ; 9 : 1630-48.

Amr S, Dawson R, Saleh D'aA, *et al.* Pesticides, gene polymorphisms, and bladder cancer among Egyptian agricultural workers. *Arch Environ Occup Health* 2015 ; 70 : 19-26.

Aschengrau A, Ozonoff D, Coogan P, *et al.* Cancer risk and residential proximity to cranberry cultivation in Massachusetts. *Am J Public Health* 1996 ; 86 : 1289-96.

ATSDR. *Toxicological profile for 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D): (Draft for Public Comment).* Atlanta, GA, USA : Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2017 : 308 p.

Baris D, Waddell R, Beane Freeman LE, *et al.* Elevated bladder cancer in Northern New England: the role of drinking water and arsenic. *J Natl Cancer Inst* 2016 ; 108 : 1-5.

Barnett JB, Gandy J. Effect of acute propanil exposure on the immune response of C57Bl/6 mice. *Fundam Appl Toxicol* 1989 ; 12 : 757-64.

Bellet EM, van Ravenzwaay B, Hellwig J, *et al.* Reproductive toxicity of MCPA (4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid) in the rat. *Int J Toxicol* 2001 ; 20 : 29-38. ••

Bellet EM, van Ravenzwaay B, Pigott G, *et al.* Chronic dietary toxicity and oncogenicity evaluation of MCPA (4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid) in rodents. *Regul Toxicol Pharmacol* 1999 ; 30 : 223-32. ••

Blair A, Zahm SH, Pearce NE, *et al.* Clues to cancer etiology from studies of farmers. *Scand J Work Environ Health* 1992 ; 18 : 209-15.

Boada LD, Henriquez-Hernandez LA, Zumbado M, *et al.* Organochlorine pesticides exposure and bladder cancer: evaluation from a gene-environment perspective in a hospital-based case-control study in the Canary Islands (Spain). *J Agromedicine* 2016 ; 21 : 34-42.

Bokan K, Syberg K, Jensen K, *et al*. Genotoxic potential of two herbicides and their active ingredients assessed with comet assay on a fish cell line, epithelioma papillosum cyprini (EPC). *J Toxicol Environ Health A* 2013 ; 76 : 1129-37.

Boulanger M, Tual S, Lemarchand C, *et al*. Agricultural exposure and risk of bladder cancer in the AGRIculture and CANcer cohort. *Int Arch Occup Environ Health* 2017 ; 90 : 169-78.

Cappellen D, Oliveira C de, Ricol D, *et al*. Frequent activating mutations of FGFR3 in human bladder and cervix carcinomas. *Nat Genet* 1999 ; 23 : 18-20.

Carlsten C, Sagoo GS, Frodsham AJ, *et al*. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) polymorphisms and lung cancer: a literature-based systematic HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2008 ; 167 : 759-74.

Cassidy A, Wang W, Wu X, *et al*. Risk of urinary bladder cancer: a case-control analysis of industry and occupation. *BMC Cancer* 2009 ; 9 : 443.

Charles JM, Leeming NM. Chronic dietary toxicity/oncogenicity studies on 2,4-dichlorophenoxybutyric acid in rodents. *Toxicol Sci* 1998 ; 46 : 21-30.

Charles JM, Bond DM, Jeffries TK, *et al*. Chronic dietary toxicity/oncogenicity studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rodents. *Fundam Appl Toxicol* 1996 ; 33 : 166-72. •

Chhabra RS, Maronpot RM, Bucher JR, *et al*. Toxicology and carcinogenesis studies of pentachlorophenol in rats. *Toxicol Sci* 1999 ; 48 : 14-20.

Colli JL, Kolettis PN. Bladder cancer incidence and mortality rates compared to ecologic factors among states in America. *Int Urol Nephrol* 2010 ; 42 : 659-65.

Cornelis C, Schoeters G, Kellen E, *et al*. Development of a GIS-based indicator for environmental pesticide exposure and its application to a Belgian case-control study on bladder cancer. *Int J Hyg Environ Health* 2009 ; 212 : 172-85.

Costa-Pinheiro P, Montezuma D, Henrique R, *et al*. Diagnostic and prognostic epigenetic biomarkers in cancer. *Epigenomics* 2015 ; 7 : 1003-15.

Cuff CF, Zhao W, Nukui T, *et al*. 3,4-Dichloropropionanilide-induced atrophy of the thymus: mechanisms of toxicity and recovery. *Fundam Appl Toxicol* 1996 ; 33 : 83-90.

Dahlhaus M, Almstadt E, Henschke P, *et al*. Induction of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and single-strand breaks in DNA of V79 cells by tetrachloro-p-hydroquinone. *Mutat Res* 1995 ; 329 : 29-36.

Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, *et al*. *Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Synthèse*. Saint-Maurice : Santé publique France, 2019 : 20 p., consulté le 20/02/20 : https://www.e-cancer.fr/content/download/266450/3759432/file/Synthese_Estimations%20nationales%20incidence%20et%20mortalite%20par%20cancer_juillet_2019.pdf

Dekant W, Vamvakas S, Berthold K, *et al*. Bacterial β-lyase mediated cleavage and mutagenicity of cysteine conjugates derived from the nephrocarcinogenic alkenes

trichloroethylene, tetrachloroethylene and hexachlorobutadiene. *Chem Biol Interact* 1986 ; 60 : 31-45.

Demers PA, Davies HW, Friesen MC, *et al.* Cancer and occupational exposure to pentachlorophenol and tetrachlorophenol (Canada). *Cancer Causes Control* 2006 ; 17 : 749-58.

Ehrlich W. The effect of pentachlorophenol and its metabolite tetrachlorohydroquinone on cell growth and the induction of DNA damage in Chinese hamster ovary cells. *Mutat Res* 1990 ; 244 : 299-302.

Espana-Agusti J, Warren A, Chew SK, *et al.* Loss of PBRM1 rescues VHL dependent replication stress to promote renal carcinogenesis. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 2026.

Fahrig R, Nilsson CA, Rappe C. Genetic activity of chlorophenols and chlorophenol impurities. In : Rao KR, ed. *Pentachlorophenol: Chemistry, Pharmacology, and Environmental Toxicology*. Boston, MA : Springer, 1978 : 325-8.

Fahrig R. *Comparative mutagenicity studies with pesticides*. Montesano R, Tomatis L. Lyon, France : International Agency for Research on Cancer, 1974.

Ferlay *et al.* Global Cancer Observatory: Cancer Today. International Agency for Research on Cancer, 2018, consulté le 06/08/19 : https://gco.iarc.fr/today

Figgs LW, Holland NT, Rothmann N, *et al.* Increased lymphocyte replicative index following 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide exposure. *Cancer Causes Control* 2000 ; 11 : 373-80.

Galloway SM, Armstrong MJ, Reuben C, *et al.* Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells: evaluations of 108 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1987 ; 10 Suppl 10 : 1-175.

Gong M, Dong W, Shi Z, *et al.* Genetic polymorphisms of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 with prostate cancer risk: a meta-analysis of 57 studies. *PLoS One* 2012 ; 7 : e50587.

González M, Soloneski S, Reigosa MA, *et al.* Genotoxicity of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic and a commercial formulation, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid dimethylamine salt. I. Evaluation of DNA damage and cytogenetic endpoints in Chinese Hamster ovary (CHO) cells. *Toxicol In Vitro* 2005 ; 19 : 289-97.

Guo CC, Czerniak B. Bladder cancer in the genomic era. *Arch Pathol Lab Med* 2019 ; 143 : 695-704.

Guo G, Gui Y, Gao S, *et al.* Frequent mutations of genes encoding ubiquitin-mediated proteolysis pathway components in clear cell renal cell carcinoma. *Nat Genet* 2011 ; 44 : 17-9.

Hattula ML, Knuutinen J. Mutagenesis of mammalian cells in culture by chlorophenols, chlorocatechols and chloroguaiacols. *Chemosphere* 1985 ; 14 : 1617-25.

Holland NT, Duramad P, Rothman N, *et al.* Micronucleus frequency and proliferation in human lymphocytes after exposure to herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in vitro and in vivo. *Mutat Res* 2002 ; 521 : 165-78.

Hoque MO, Begum S, Topaloglu O, *et al*. Quantitative detection of promoter hypermethylation of multiple genes in the tumor, urine, and serum DNA of patients with renal cancer. *Cancer Res* 2004 ; 64 : 5511.

Huang W, Shi H, Hou Q, *et al*. GSTM1 and GSTT1 polymorphisms contribute to renal cell carcinoma risk: evidence from an updated meta-analysis. *Sci Rep* 2015 ; 5 : 17971.

Hu J, Mao Y, White K. Renal cell carcinoma and occupational exposure to chemicals in Canada. *Occup Med (Lond)* 2002 ; 52 : 157-64.

IARC. *Pentachlorophenol and somerRelated compounds*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 117. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2019 : 325 p.

IARC. *DDT, Lindane, and 2,4-D*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 113. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2018 : 503 p.

IARC. *Trichloroethylene, tetrachloroethylene and some other chlorinated agents*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 106. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2014 : 514 p.

IARC. *A review of human carcinogens: Part C. Arsenic, metals, fibres, and dusts*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 100C. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2012a : 501 p.

IARC. *A review of human carcinogens: Part F. Chemical agents and related occupations*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 100F. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2012b : 628 p.

IARC. *Overall evaluation of carcinogenicity: an updating of IARC monographs, vol. 1 to 42*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 1-42, suplément 7. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 1987 : 1440 p.

IARC. *Some fumigants, the herbicides 2,4-D and 2,4,5-T, chlorinated dibenzodioxins and miscellaneous industrial chemicals*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 15. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 1977 : 341 p.

Jackson SS, St George DM, Loffredo CA, *et al*. Nonoccupational exposure to agricultural work and risk of urinary bladder cancer among Egyptian women. *Arch Environ Occup Health* 2017 ; 72 : 166-72.

Jansson K, Jansson V. Inability of chlorophenols to induce 6-thioguanine-resistant mutants in V79 Chinese hamster cells. *Mutat Res* 1986 ; 171 : 165-8.

Johnson AB, Denko N, Barton MC. Hypoxia induces a novel signature of chromatin modifications and global repression of transcription. *Mutat Res* 2008 ; 640 : 174-9.

Jones RR, Barone-Adesi F, Koutros S, *et al.* Incidence of solid tumours among pesticide applicators exposed to the organophosphate insecticide diazinon in the Agricultural Health Study: an updated analysis. *Occup Environ Med* 2015 ; 72 : 496-503.

Joosten SC, Smits KM, Aarts MJ, *et al.* Epigenetics in renal cell cancer: mechanisms and clinical applications. *Nat Rev Urol* 2018 ; 15 : 430-51.

Juanpere N, Agell L, Lorenzo M, *et al.* Mutations in FGFR3 and PIK3CA, singly or combined with RAS and AKT1, are associated with AKT but not with MAPK pathway activation in urothelial bladder cancer. *Hum Pathol* 2012 ; 43 : 1573-82.

Kang D, Park SK, Beane-Freeman L, *et al.* Cancer incidence among pesticide applicators exposed to trifluralin in the Agricultural Health Study. *Environ Res* 2008 ; 107 : 271-6.

Karami S, Boffetta P, Rothman N, *et al.* Renal cell carcinoma, occupational pesticide exposure and modification by glutathione S-transferase polymorphisms. *Carcinogenesis* 2008 ; 29 : 1567-71.

Khella HWZ, Daniel N, Youssef L, *et al.* miR-10b is a prognostic marker in clear cell renal cell carcinoma. *J Clin Pathol* 2017 ; 70 : 854-9.

Kociba RJ, Keyes DG, Lisowe RW, *et al.* Results of a two-year chronic toxicity and oncogenic study of rats ingesting diets containing 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T). *Food Cosmet Toxicol* 1979 ; 17 : 205-21.

Korte C, Jalal SM. 2,4-D induced clastogenicity and elevated rates of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *J Hered* 1982 ; 73 : 224-6.

Koutros S, Silverman DT, Alavanja MC, *et al.* Occupational exposure to pesticides and bladder cancer risk. *Int J Epidemiol* 2016 ; 45 : 792-805.

Koutros S, Lynch CF, Ma X, *et al.* Heterocyclic aromatic amine pesticide use and human cancer risk: results from the U.S. Agricultural Health Study. *Int J Cancer* 2009 ; 124 : 1206-12.

La Vecchia C, Negri E, D'Avanzo B, *et al.* Occupation and the risk of bladder cancer. *Int J Epidemiol* 1990 ; 19 : 264-8.

Liang Z, Wang X, Xie B, *et al.* Pesticide exposure and risk of bladder cancer: A meta-analysis. *Oncotarget* 2016 ; 7 : 66959-69.

Lin P-H, La DK, Upton PB, *et al.* Analysis of DNA adducts in rats exposed to pentachlorophenol. *Carcinogenesis* 2002 ; 23 : 365-9.

Li Y, Chen D, Li Y, *et al.* Identification of miR-130b as an oncogene in renal cell carcinoma. *Mol Med Rep* 2016 ; 13 : 1902-8.

Lui ST, Shuch B. Genetic testing in kidney cancer patients: who, when, and how? *Eur Urol Focus* 2019 ; 5 : 973-6.

Madrigal-Bujaidar E, Hernández-Ceruelos A, Chamorro G. Induction of sister chromatid exchanges by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in somatic and germ cells of mice exposed in vivo. *Food Chem Toxicol* 2001 ; 39 : 941-6.

Maire MA, Rast C, Landkocz Y, *et al.* 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid: effects on Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation, c-Myc expression, DNA damage and apoptosis. *Mutat Res* 2007 ; 631 : 124-36.

Matic MG, Coric VM, Savic-Radojevic AR, *et al.* Does occupational exposure to solvents and pesticides in association with glutathione S-transferase A1, M1, P1, and T1 polymorphisms increase the risk of bladder cancer ? The Belgrade case-control study. *PLoS One* 2014 ; 9 : e99448.

Mellemgaard A, Engholm G, McLaughlin JK, *et al.* Occupational risk factors for renal-cell carcinoma in Denmark. *Scand J Work Environ Health* 1994 ; 20 : 160-5.

Mustonen R, Kangas J, Vuojolahti P, *et al.* Effects of phenoxyacetic acids on the induction of chromosome aberrations in vitro and in vivo. *Mutagenesis* 1986 ; 1 : 241-5.

Nguyen TNT, Bertagnolli AD, Villalta PW, *et al.* Characterization of a deoxyguanosine adduct of tetrachlorobenzoquinone: dichlorobenzoquinone-1,N2-etheno-2'-deoxyguanosine. *Chem Res Toxicol* 2005 ; 18 : 1770-6.

Nickerson ML, Jaeger E, Shi Y, *et al.* Improved identification of von Hippel-Lindau gene alterations in clear cell renal tumors. *Clin Cancer Res* 2008 ; 14 : 4726-34.

Noone *et al.* SEER Cancer statistics review, 1975-2015: National Cancer Institute, 2018, consulté le 29/07/19 : https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/

NTP. NTP Toxicology and carcinogenesis studies of two pentachlorophenol technical-grade mixtures (CAS n° : 87-86-5) in B6C3F1 mice (feed studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser* 1989 ; 349 : 1-265.

Paigen K, Peterson J, Paigen B. Role of urinary beta-glucuronidase in human bladder cancer. *Cancer Res* 1984 ; 44 : 3620-3.

Petrozza V, Pastore AL, Palleschi G, *et al.* Secreted miR-210-3p as non-invasive biomarker in clear cell renal cell carcinoma. *Oncotarget* 2017 ; 8 : 69551-8.

Rafnsson V. Cancer incidence among farmers exposed to lindane while sheep dipping. *Scand J Work Environ Health* 2006 ; 32 : 185-9.

Royer-Pokora B. Genetics of pediatric renal tumors. *Pediatr Nephrol* 2013 ; 28 : 13-23.

Rusiecki JA, de Roos A, Lee WJ, *et al.* Cancer incidence among pesticide applicators exposed to atrazine in the Agricultural Health Study. *J Natl Cancer Inst* 2004 ; 96 : 1375-82.

Sai-Kato K, Umemura T, Takagi A, *et al.* Pentachlorophenol-induced oxidative DNA damage in mouse liver and protective effect of antioxidants. *Food Chem Toxicol* 1995 ; 33 : 877-82.

Scelo G, Larose TL. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *J Clin Oncol* 2018 ; 36 : 3574-81.

Settimi L, Comba P, Bosia S, *et al.* Cancer risk among male farmers: a multi-site case-control study. *Int J Occup Med Environ Health* 2001 ; 14 : 339-47.

Sharma T, Jain S, Verma A, *et al*. Gene environment interaction in urinary bladder cancer with special reference to organochlorine pesticide: a case control study. *Cancer Biomark* 2013 ; 13 : 243-51.

Silva-Santos RM, Costa-Pinheiro P, Luis A, *et al*. MicroRNA profile: a promising ancillary tool for accurate renal cell tumour diagnosis. *Br J Cancer* 2013 ; 109 : 2646.

Song K, Yi J, Shen X, *et al*. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase genes GSTM1, GSTT1 and risk of hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2012 ; 7 : e48924.

Stang A, Witte I. The ability of the high-throughput comet assay to measure the sensitivity of five cell lines toward methyl methanesulfonate, hydrogen peroxide, and pentachlorophenol. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2010 ; 701 : 103-6.

Stojanovic J, Milovanovic S, Pastorino R, *et al*. Occupational exposures and genetic susceptibility to urinary tract cancers: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer Prev* 2018 ; 27 : 468-76.

Takeuchi S, Iida M, Yabushita H, *et al*. In vitro screening for aryl hydrocarbon receptor agonistic activity in 200 pesticides using a highly sensitive reporter cell line, DR-EcoScreen cells, and in vivo mouse liver cytochrome P450-1A induction by propanil, diuron and linuron. *Chemosphere* 2008 ; 74 : 155-65.

Tasaki M, Kuroiwa Y, Inoue T, *et al*. Oxidative DNA damage and in vivo mutagenicity caused by reactive oxygen species generated in the livers of p53-proficient or -deficient gpt delta mice treated with non-genotoxic hepatocarcinogens. *J Appl Toxicol* 2013 ; 33 : 1433-41.

Umemura T, Kai S, Hasegawa R, *et al*. Pentachlorophenol (PCP) produces liver oxidative stress and promotes but does not initiate hepatocarcinogenesis in B6C3F1 mice. *Carcinogenesis* 1999 ; 20 : 1115-20.

Ünal F, Yüzbaşıoğlu D, Yılmaz S, *et al*. Genotoxic effects of chlorophenoxy herbicide diclofop-methyl in mice in vivo and in human lymphocytes in vitro. *Drug Chem Toxicol* 2011 ; 34 : 390-5.

USEPA. *Reregistration eligibility decision for dichlorprop-p (2,4-DP-p): EPA 738-R-07-008*. Washington, DC : US Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, 2007a : 101 p.

USEPA. *Revised HED Human Health Risk Assessment for Mecoprop (93-65-2): EPA Docket No. : EPA-HQ-OPP-2006-0943-0004*. Washington, DC : US Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, 2007b : 44 p.

USEPA. *Evaluation of the carcinogenic potential of mecoprop-p*. Washington, DC : US Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, 2003 : 40 p.

USEPA. *Final drinking water criteria document for Dalapon*. Washington, DC : US Environmental Protection Agency, Office of Science and Technology, Office of Water, 1992 : 70 p.

USEPA. *Summary on (2,4,5-Trichlorophenoxy) propionic acid (2,4,5-TP) (93-72-1)*. Washington, DC : US Environmental Protection Agency, Integrated Risk Information System (IRIS), 1988 : 10 p., consulté le 06/01/20 : http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0323_summary.pdf

USEPA. *Guidance for the reregistration of pesticide products containing propanil as the active ingredient*. Washington, DC : US Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances, 1987 : 125 p., consulté le 06/01/20 : https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/9100AUOI.PDF?Dockey=9100AUOI.PDF

Varela I, Tarpey P, Raine K, *et al*. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma. *Nature* 2011 ; 469 : 539-42.

Verma H, Sharma T, Gupta S, *et al*. CYP1A1 expression and organochlorine pesticides level in the etiology of bladder cancer in North Indian population. *Hum Exp Toxicol* 2018 ; 37 : 817-26.

Vieira-Coimbra M, Henrique R, Jerónimo C. New insights on chromatin modifiers and histone post-translational modifications in renal cell tumours. *Eur J Clin Invest* 2015 ; 45 Suppl 1 : 16-24.

Viel JF, Challier B. Bladder cancer among French farmers: does exposure to pesticides in vineyards play a part ? *Occup Environ Med* 1995 ; 52 : 587-92.

Wang YJ, Ho YS, Jeng JH, *et al*. Different cell death mechanisms and gene expression in human cells induced by pentachlorophenol and its major metabolite, tetrachlorohydroquinone. *Chem Biol Interact* 2000 ; 128 : 173-88.

Wang YJ, Ho YS, Chu SW, *et al*. Induction of glutathione depletion, p53 protein accumulation and cellular transformation by tetrachlorohydroquinone, a toxic metabolite of pentachlorophenol. *Chem Biol Interact* 1997 ; 105 : 1-16.

Wesseling C, Antich D, Hogstedt C, *et al*. Geographical differences of cancer incidence in Costa Rica in relation to environmental and occupational pesticide exposure. *Int J Epidemiol* 1999 ; 28 : 365-74.

Witte I, Juhl U, Butte W. DNA-damaging properties and cytotoxicity in human fibroblasts of tetrachlorohydroquinone, a pentachlorophenol metabolite. *Mutat Res* 1985 ; 145 : 71-5.

Xiao W, Lou N, Ruan H, *et al*. Mir-144-3p Promotes cell proliferation, metastasis, sunitinib resistance in clear cell renal cell carcinoma by downregulating ARID1A. *Cell Physiol Biochem* 2017 ; 43 : 2420-33.

Xie B, Hu Y, Liang Z, *et al*. Association between pesticide exposure and risk of kidney cancer: a meta-analysis. *Onco Targets Ther* 2016 ; 9 : 3893-900.

Xie YC, Schafer R, Barnett JB. The immunomodulatory effects of the herbicide propanil on murine macrophage interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha production. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997 ; 145 : 184-91.

Yang X, Long S, Deng J, *et al*. Glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) and their susceptibility to renal cell carcinoma: an evidence-based meta-analysis. *PLoS One* 2013 ; 8 : e63827.

Zahm SH, Hartge P, Hoover R. The National Bladder Cancer Study: employment in the chemical industry. *J Natl Cancer Inst* 1987 ; 79 : 217-22.

Zarzour AH, Selim M, Abd-Elsayed AA, *et al*. Muscle invasive bladder cancer in Upper Egypt: the shift in risk factors and tumor characteristics. *BMC Cancer* 2008 ; 8 : 250.

15
Sarcomes des tissus mous et des viscères

Les sarcomes des tissus mous et des viscères sont des tumeurs malignes rares, représentant moins de 1 % de tous les cancers chez les adultes. Ils se développent aux dépens des tissus de soutien de l'organisme ; les tissus adipeux, les tissus fibreux comme les tendons et les ligaments, les muscles striés ou lisses, les vaisseaux sanguins et lymphatiques et le derme. Ils surviennent aussi au niveau de viscères, comme la paroi du système digestif (estomac, intestin et colon). La localisation de ces tumeurs est très diverse ; une moitié survient dans un membre (bras ou jambe) et les autres au niveau de l'abdomen, du thorax ou de la tête. Le pronostic est déterminé par la présence de métastases qui sont majoritairement pulmonaires et présentes dans environ 10 % des cas, ainsi que par la taille, le grade et le stade de la tumeur, et son emplacement.

Les tumeurs sont classifiées en fonction de leur origine tissulaire et elles ont un potentiel évolutif très variable. On recense plus de 50 types histologiques, dont la nature et le classement évoluent avec les progrès de la biologie moléculaire et la découverte de nouvelles entités. Les tumeurs stromales gastro-intestinales (ou GIST) et les tumeurs des gaines des nerfs périphériques sont depuis 2013 rattachées à ce groupe de cancers dans la dernière édition de la classification OMS des tumeurs des tissus mous (Fletcher et coll., 2013). Une proportion assez importante (environ 20 %) des sarcomes des tissus mous sont dits « indifférenciés » car la cellule d'origine de la tumeur ne peut être définie.

On les différencie des tumeurs des tissus mous non cancéreuses (bénignes) telles que des lipomes et des hémangiomes qui sont plus fréquentes, et également des sarcomes osseux (ostéosarcomes, chondrosarcomes) qui se développent au niveau des os et des cartilages et dont le tableau clinique et les caractéristiques épidémiologiques sont bien distinctes.

Incidence et mortalité

Sur le plan de la surveillance épidémiologique, ces tumeurs posent des difficultés particulières, notamment en raison de leur diversité et de leur caractère ubiquitaire dans l'organisme. Elles peuvent être rattachées et/ou confondues avec d'autres tumeurs d'organe et n'entrent alors pas dans la catégorie des sarcomes des tissus mous. À titre d'illustration, les tumeurs stromales gastro-intestinales étaient jusqu'à présent considérées par la Classification internationale des maladies pour l'oncologie (CIM-O) parmi les cancers de l'appareil digestif.

Une étude des sarcomes des tissus mous en France a montré que leur incidence augmente avec l'âge et que certains types histologiques varient selon le sexe et l'âge (Ducimetière et coll., 2011). Les dernières estimations réalisées par le réseau FRANCIM portent à 2 658 nouveaux cas annuels le nombre de ces tumeurs chez l'homme et à 2 636 nouveaux cas chez la femme, soit des incidences proches de 5 cas pour 100 000 habitants par an (Defossez et coll., 2019). D'après des registres des cancers européens et américains, le taux de survie à 5 ans de ce cancer est de 58 à 65 % pour tous les types et stades confondus (Stiller et coll., 2013 ; Noone et coll., 2018).

Étiologie et facteurs de risque

L'étiologie de ces tumeurs est mal connue. La majorité sont des cas sporadiques, mais des associations avec certains syndromes génétiques tels que la maladie de Recklinghausen, le syndrome de Li-Fraumeni, le syndrome de Werner et le rétinoblastome sont aujourd'hui connues. Certains sarcomes apparaissent en lien avec des maladies du système immunitaire (sarcome de Kaposi dans le SIDA). Des facteurs de risque de l'environnement général ou professionnel sont par ailleurs également suspectés, tels que les rayonnements ionisants, les dioxines, le chlorure de vinyle (pour l'angiosarcome hépatique), l'arsenic, ou encore les pesticides.

Données épidémiologiques

Méta-analyses et revues

Plusieurs articles de synthèse ont été publiés sur le rôle des pesticides dans la survenue des sarcomes des viscères et des tissus mous. Aucun d'entre eux n'a une portée générale sur l'utilisation des pesticides en agriculture : ils ont

fréquemment été orientés par la question spécifique du potentiel cancérogène des phénoxyherbicides (dont le 2,4-D[57]) et des chlorophénols. Les études épidémiologiques sur ces substances se sont en effet multipliées dans les années 1970 et 1980 suite à la mise en évidence d'associations fortes en Suède, allant jusqu'à une multiplication par 5 ou 6 du risque de sarcome chez les personnes exposées, posant des questions de santé publique et des enjeux économiques importants. Ces études ont donné lieu à trois revues ou méta-analyses (Lynge et coll., 1987 ; Kelly et Guidotti, 1989-1990 ; Cole Johnson et coll., 1990) qui soulignaient les difficultés méthodologiques des études, à la fois concernant la rareté de ces tumeurs, la définition de la pathologie (parfois basée sur des certificats de décès, n'incluant pas toujours les mêmes sous-types histologiques, avec ou sans vérification par une expertise anatomopathologique), et l'estimation des expositions (ne s'appuyant parfois que sur les intitulés de profession, ne définissant pas toujours clairement les durées et les intensités). La contamination probable de ces pesticides par des dioxines lors de leur production était un sujet particulièrement débattu. Celle-ci pouvait notamment expliquer les différences entre les résultats des études épidémiologiques menées dans des pays différents : les procédés de fabrication variaient et certains étaient moins susceptibles d'aboutir à la production de dioxines. La revue de Kelly et Guidotti concluait que le niveau de preuve concernant le rôle des expositions professionnelles à ces pesticides apparaissait plus fort pour les lymphomes malins non hodgkiniens que pour les sarcomes. Cole Johnson et coll. ont réalisé une méta-analyse des études publiées jusqu'en 1987 concernant les phénoxyherbicides et les chlorophénols, qu'il s'agisse d'études cas-témoins (n = 8) ou de cohortes agricoles ou industrielles (n = 7). L'analyse combinée des cohortes mettait en évidence un ratio de mortalité proportionnelle (PMR)[58] associée à l'exposition aux phénoxyherbicides ou aux chlorophénols (oui/non) de 3,5 ; IC 95 % [0,7-10,3] et celle des études cas-témoins un OR significatif de 1,4 ; IC 95 % [1,1-1,7], mais avec une hétérogénéité importante entre les études. L'exclusion des études cas-témoins suédoises ne permettait plus de mettre en évidence une association. En effet, elle conduisait à une diminution du risque qui devenait non significatif (OR = 1,1 ; IC 95 % [0,9-1,4]) et faisait disparaître l'hétérogénéité. L'analyse en fonction du niveau d'exposition montrait des associations plus fortes pour les études où les expositions étaient plus intenses. Compte-tenu de la polémique forte sur l'effet de ces substances et des enjeux commerciaux, les auteurs considéraient que les études négatives avaient eu autant de chance d'être publiées que les études positives, ce qui

57. 2,4-D : acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (n° CAS : 94-75-7).
58. *Proportionate Mortality Ratio* (PMR), défini comme la part de la mortalité par cancer imputable aux sarcomes.

rendait peu probables un biais de publication et une surestimation des associations. Ils concluaient que les cohortes, en raison du nombre de cas trop limités, apportaient peu d'informations fiables, et que les études cas-témoins étaient difficiles à interpréter en raison de leur hétérogénéité. Les études existantes ne leur semblaient donc pas en faveur d'une association entre les phénoxyherbicides et les chlorophénols et la survenue de sarcomes des tissus mous.

Une méta-analyse a été par la suite publiée sur les études cas-témoins menées en Suède concernant le rôle des phénoxyherbicides et des chlorophénols (Hardell et coll., 1995). Elle incluait 4 analyses, construites sur un protocole comparable et portant sur un total de 434 cas et 948 témoins. Elle montrait un doublement de risque aussi bien pour les expositions aux phénoxyherbicides qu'aux chlorophénols (OR = 2,7 ; IC 95 % [1,9-4,7] et 3,3 ; IC 95 % [1,8-6,1]), ceci pour tous les sous-types de sarcomes (à l'exception des sarcomes synoviaux), et notamment sur des zones du corps potentiellement exposées aux pesticides lors des traitements. Une dernière revue incluait l'ensemble des études publiées jusqu'en 2014 concernant le rôle des phénoxyherbicides dans la survenue des sarcomes des tissus mous (Jayakody et coll., 2015), soit 10 études cas-témoins (dont 7 incluses dans l'étude de Cole Johnson) et 10 études de cohorte (dont 4 incluses dans l'étude de Cole Johnson mais pour certaines avec un suivi moins long). Les auteurs n'ont pas calculé de risque combiné à partir de ces études et, comme les revues précédentes, concluaient qu'il n'était pas possible de conclure quant au risque associé à ces substances, sur la base des données existantes.

Études de cohorte

La survenue de séries de cas de sarcomes chez des travailleurs de l'industrie de production de 2,4,5-T[59] aux États-Unis a donné lieu à plusieurs correspondances dans le *Lancet* en 1981 et a contribué à documenter l'hypothèse d'une contamination par des dioxines lors du procédé de fabrication des phénoxyherbicides (Cook, 1981 ; Honchar et Halperin, 1981 ; Johnson et coll., 1981 ; Moses et Selikoff, 1981). Neuf analyses de cohortes rétrospectives, menées dans l'objectif d'explorer cette hypothèse, ont été recensées entre 1979 et 1986, aussi bien dans le contexte industriel qu'en agriculture (tableau 15.I, voir en fin de ce chapitre). Quatre d'entre elles, dont une seule observait la survenue d'un cas, comportaient moins de 500 travailleurs et étaient très peu informatives (Johnson, 1990). Les cinq autres cohortes concernaient des travailleurs de l'industrie (Zack et Gaffey, 1983 ; Lynge,

59. 2,4,5-T : acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique (n° CAS : 93-76-5).

1985 ; Ott et coll., 1987) ou des personnes exposées en agriculture (Riihimäki et coll., 1982 ; Wiklund et Holm, 1986). Dans les années 1990, le suivi prospectif de certaines de ces cohortes a été réalisé (Asp et coll., 1994 ; Lynge, 1998 ; Collins et coll., 2009).

Utilisateurs de pesticides (forêts, agriculture, jardins)

Une étude sur l'exposition professionnelle aux phénoxyherbicides et le risque de sarcome des tissus mous a été réalisée sur une cohorte de travailleurs agricoles et forestiers en Suède (Wiklund et Holm, 1986). Cette cohorte, la plus ancienne et la plus grande étudiée dans ce contexte, comprenait plus de 350 000 hommes nés entre 1891 et 1940. La population a été classée en 6 catégories d'exposition à partir de l'intitulé des professions dans le recensement national : *i)* des agriculteurs exposés au MCPA[60], 2,4-D et 2,4,5-T, *ii*) des travailleurs dans des plantations forestières et *iii*) des bûcherons exposés de manière directe ou indirecte respectivement au 2,4-D et 2,4,5-T, *iv*) des horticulteurs exposés à d'autres substances, *v*) les vétérinaires, éleveurs d'animaux et des personnes pratiquant d'autres travaux agricoles avec des expositions hétérogènes, et *vi*) les pratiquants d'autres activités forestières avec des expositions hétérogènes. Ces différentes sous-cohortes ont été comparées à près de 2 millions de travailleurs d'autres secteurs quant à la survenue de sarcomes sur la période 1961-1979, identifiés par croisement avec le registre national. Au sein de ces sous-cohortes, 331 cas de sarcomes sont survenus. Il n'était pas observé d'élévation du risque de sarcome globalement (OR = 0,9 ; IC 95 % [0,8-1,0]) ni dans chacune des sous-cohortes.

En Finlande, une cohorte de près de 2 000 applicateurs d'herbicides a été constituée en 1972, et suivie jusqu'en 1989. Aucun cas de sarcome n'a été décelé dans cette population (Asp et coll., 1994). Au Danemark, les cas de sarcomes ont été identifiés sur la période 1975-2001 dans une cohorte rétrospective de 3 156 jardiniers, par croisement avec le registre national des cancers (Hansen et coll., 2007). La comparaison des cas observés a été réalisée par rapport à la population générale danoise. Les auteurs ont considéré des intensités d'exposition sur la base des dates de naissance : les personnes nées avant 1915 ont été classées comme les plus exposées, un niveau intermédiaire a été attribué aux personnes nées entre 1915 et 1934 et faible pour celles nées après 1935. Les quatre cas de sarcomes survenus pendant le suivi ont permis de calculer un rapport standardisé d'incidence (*Standardized Incidence Ratio* ; SIR) de 1,96 ; IC 95 % [0,53-5,02] pour l'ensemble des travailleurs, atteignant 5,87 ; IC 95 % [1,89-18,20] pour la catégorie des plus exposés.

60. MCPA : acide 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique (n° CAS : 94-74-6).

Industrie des pesticides

Dans le secteur de la production des pesticides, une cohorte américaine rétrospective menée par la firme *Dow Chemicals* dans le Michigan portait sur la mortalité entre 1940 et 1982 de 2 192 ouvriers affectés à la fabrication de divers chlorophénols et du 2,4,5-T. Deux cas de sarcomes ont été identifiés, dont un au cours du suivi entre 1940 et 1980, invalidé ultérieurement par une expertise anatomopathologique, et un second en 1983, en dehors de la période de suivi initial (Ott et coll., 1987). Le suivi de 1 615 ouvriers de l'usine de *Dow Chemicals* exposés au trichlorophénol s'est poursuivi jusqu'en 2003 et a permis d'identifier 4 cas de sarcomes des tissus mous, conduisant à un rapport standardisé de mortalité (*Standardized Mortality Ratio* ; SMR) de 4,1 ; IC 95 % [1,1-10,5] (Collins et coll., 2009).

La combinaison de 2 122 ouvriers exposés au pentachlorophénol dans cette usine du Michigan et dans 3 autres sites (Illinois, Washington et Kansas) a permis au *National Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) d'analyser la mortalité par cancer en lien avec cette substance par rapport à la population générale des États-Unis. Seulement deux cas de sarcomes des tissus mous ont été identifiés (un homme et une femme), permettant de calculer un SMR de 1,52 ; IC 95 % [0,18-5,48] qui était plus élevé mais toujours non significatif (SMR = 2,26 ; IC 95 % [0,06-12,6]) dans les analyses restreintes aux ouvriers exposés à la fois au pentachlorophénol et au tétrachlorophénol (Ruder et Yiin, 2011).

Au Danemark, l'ensemble des travailleurs employés dans la production de phénoxyherbicides (produisant surtout du 2,4-D et du MCPA) sur 2 sites industriels avant 1982 a été suivi sur la période 1947-1993. La survenue de 4 cas de sarcomes a été observée. Une élévation du risque de sarcomes des tissus mous chez les hommes était notée, en particulier en considérant une latence de 10 ans (RR = 3,67 ; IC 95 % [1,0-9,4]), pour les personnes travaillant dans les ateliers de production et de conditionnement (Lynge, 1985). Le suivi de l'incidence montrait des résultats cohérents avec les premières analyses, suggérant une élévation de risque de sarcomes mous chez les hommes exposés aux phénoxyherbicides, bien que celle-ci n'apparaisse plus statistiquement significative, après correction de l'un des diagnostics (SIR = 2,18 ; IC 95 % [0,6-5,6]) (Lynge, 1998).

Une autre cohorte a été mise en place au Royaume-Uni sur 6 sites de production de phénoxyherbicides (2,4-D, MCPA, 2,4,5-T), regroupant plus de 8 000 ouvriers et permettant, par croisement avec les fichiers de l'Assurance maladie et les bases de décès, d'analyser l'incidence et la mortalité par cancer. Le suivi jusqu'en 2012 a enregistré la survenue de 4 décès par sarcome des

tissus mous et a conduit au calcul d'un OR = 2,05 ; IC 95 % [0,42-5,98], non significatif, en lien avec des expositions potentielles aux phénoxyherbicides pour une durée d'un an ou plus (Coggon et coll., 2015).

Un projet du Centre international de recherche sur le cancer a permis de combiner les données de 24 cohortes (dont celles mentionnées ci-dessus aux États-Unis, au Danemark et au Royaume-Uni) avec des cohortes provenant d'Allemagne, d'Australie, d'Autriche, du Canada, de Finlande, d'Italie, des Pays-Bas, de Suède et de Nouvelle Zélande (Kogevinas et coll., 1997). Parmi les 26 615 ouvriers ainsi assemblés, les expositions ont été définies sur la période 1939-1992 et les ouvriers exposés (n = 21 863) ont été inclus dans les analyses, en distinguant les expositions aux phénoxyherbicides et chlorophénols d'une part et les expositions aux dioxines d'autre part. La survenue de 9 sarcomes a été observée à partir des certificats de décès et des registres de cancer. L'exposition aux phénoxyherbicides et aux chlorophénols était associée à un doublement de risque de sarcome, à la limite de la significativité (OR = 2,0 ; IC 95 % [0,91-3,79]).

Études cas-témoins

La question du rôle des pesticides dans la survenue de sarcomes des tissus mous et des viscères a émergé très tôt par rapport au questionnement général sur les effets des pesticides sur la santé, dès la fin des années 1970 à la suite d'observations cliniques en Suède. Le nombre de patients atteints de cette pathologie et ayant manipulé des phénoxyherbicides était apparu anormalement élevé à des oncologues suédois. Une première étude cas-témoins a été mise en place en Suède incluant 52 cas (dont 21 vivants et 31 décédés) et 208 témoins (Hardell et Sandström, 1979) (tableau 15.II, voir en fin de ce chapitre). Elle a mis en évidence un risque 5 à 6 fois plus élevé de sarcomes chez les personnes exposées soit aux phénoxyherbicides soit aux chlorophénols ($p < 0,001$). Cette étude s'appuyait sur un registre national de cancer et confirmait les diagnostics par une expertise anatomopathologique des tumeurs. L'estimation des expositions reposait sur la déclaration des individus, à la suite d'auto-questionnaires postaux complétés secondairement par des entretiens téléphoniques. Les données sur les utilisations de pesticides avaient été validées par le recueil d'informations auprès des entreprises. L'hypothèse d'une contamination de ces pesticides par des dioxines (impuretés de fabrication) a été d'emblée évoquée par les auteurs. Une seconde étude a été initiée dans le même pays et selon un protocole identique, mais dans une autre région (Eriksson et coll., 1981). Elle a mis en évidence des résultats similaires en incluant 110 cas et 220 témoins, à une période où le

2,4,5-TP[61], le phénoxyherbicide le plus fréquemment contaminé par des dérivés de dioxine, était interdit. Dans cette deuxième étude, des élévations de risque étaient observées aussi pour des phénoxyherbicides (2,4-D ou MCPA) a priori moins ou pas contaminés par des dioxines (OR = 5,1 ; IC 95 % [2,5-10,4]).

À la suite de ces deux études suédoises qui montraient des risques élevés, plusieurs études cas-témoins ont été menées dans divers pays.

En Grande-Bretagne, à partir de cas de registres identifiés sur la base des codes topographiques de la 8e révision de la Classification internationale des maladies (CIM-8), en excluant les sarcomes viscéraux, et en estimant l'exposition à partir de l'intitulé des professions au moment du diagnostic, une étude mettait en évidence une élévation de risque modérée chez les agriculteurs, les exploitants agricoles et les maraîchers (OR = 1,7 ; IC 95 % [1,00-2,88]) mais moindre chez les travailleurs agricoles et forestiers (OR = 1,15 ; IC 95 % [0,83-1,59]) (Balarajan et Acheson, 1984).

En Nouvelle-Zélande, une étude portant sur 82 cas de sarcomes incidents (identifiés par les registres et disposant de données anatomopathologiques ou identifiés dans les bases de décès) comparés à des témoins atteints d'autres cancers ne trouvait pas d'élévation du risque en lien avec l'utilisation de pesticides agricoles (Smith et coll., 1984). Elle montrait une élévation de 60 % non significative du risque en considérant les expositions probables ou certaines aux phénoxyherbicides (avec une latence de 5 années).

Dans le Nord de l'Italie, une étude cas-témoins a démontré une élévation du risque de sarcome (hors sarcomes viscéraux) chez des femmes pratiquant le désherbage manuel dans les rizières où les phénoxyherbicides étaient utilisés (OR = 2,42 ; IC 90 % [0,56-10,34]) (Vineis et coll., 1987). Il n'était pas observé d'élévation de risque dans une étude menée au Kansas à partir de 139 cas identifiés par le registre de cancer, avec une confirmation des diagnostics anatomopathologiques et de témoins tirés au sort en population générale (Hoar et coll., 1986). L'estimation des expositions était dans cette étude réalisée à partir d'entretiens téléphoniques incluant des questionnaires spécifiques sur les usages agricoles de pesticides (sur blé, maïs, sorgho ou prairies).

Une étude cas-témoins à partir de 128 cas de sarcomes des tissus mous confirmés par examen histologique et de témoins issus de la population générale dans l'État de Washington aux États-Unis a évalué le risque associé à l'exposition professionnelle aux phénoxyherbicides et chlorophénols (Woods

61. 2,4,5-TP : acide 2-(2,4,5-trichlorophénoxy)propionique (n° CAS : 93-72-1).

et coll., 1987). Aucun lien n'a été mise en évidence pour les phénoxyherbicides, même si les résultats évoquaient un risque élevé chez les applicateurs professionnels (OR = 1,77 ; IC 95 % [0,5-6,6]), une différence qui n'a toutefois pas atteint le seuil de signification statistique. Des résultats similaires ont été obtenus pour les travailleurs dans les métiers du bois avec des niveaux d'exposition aux chlorophénols élevés, et pour lequel un lien significatif a été mis en évidence pour les classeurs de bois d'œuvre (OR = 2,66 ; IC 95 % [1,1-6,4]).

Une autre étude cas-témoins en Suède (n = 71 cas et 315 témoins) montrait un excès de risque chez les agriculteurs (OR = 1,3 ; IC 90 % [0,6-2,6]) et les personnes possiblement exposées aux chlorophénols ou aux phénoxyherbicides (OR = 1,6 ; IC 90 % [0,8-3,3]), mais plus marqué chez les jardiniers (OR = 4,1 ; IC 90 % [1,0-14]) et les ouvriers travaillant sur les voies ferrées (OR = 3,1 ; IC 90 % [0,6-14]) (Wingren et coll., 1990). Dans cette étude, seuls des codes topographiques étaient disponibles (CIM-7), et l'estimation des expositions était basée sur un questionnaire postal détaillé complété par un entretien téléphonique pour les agriculteurs et les forestiers.

Si la plupart des études menées dans les années 1970 et 1980 se concentraient sur les phénoxyherbicides et les chlorophénols, une seconde analyse de l'étude cas-témoins (n = 133 *versus* n = 948) menée au Kansas élargissait les hypothèses en mettant en évidence une élévation du risque chez les éleveurs ayant réalisé des traitements insecticides sur les animaux (OR = 1,7 ; IC 95 % [1,0-2,9]). Ce risque était plus marqué pour les périodes les plus anciennes (avant 1956), pour les applications par pulvérisation et les poudrages, et chez les personnes qui ne portaient pas d'équipements de protection. Il apparaissait également plus particulièrement pour les sarcomes fibreux (OR = 2,3 ; IC 95 % [0,8-7,2]) et myomateux (OR = 2,6 ; IC 95 % [1,0-7,3]) (Hoar Zahm et coll., 1988).

À partir des années 1990, le lien avec les phénoxyherbicides et les chlorophénols a continué d'être exploré dans quelques études. En Australie, à partir de cas provenant du registre des cancers de Victoria (n = 30) et de témoins hospitaliers ou en population générale (n = 60), il n'était pas observé de lien avec ces substances (exposition au moins un jour au cours de la vie) bien que l'association soit devenue plus forte après 30 jours d'exposition (Smith et Christophers, 1992). Dans 8 États américains, une analyse sur 259 cas identifiés par les registres (tous sarcomes avec une confirmation anatomopathologique à l'exclusion des sarcomes de Kaposi, des mésothéliomes, de l'existence d'un SIDA, et de certains syndromes génétiques), et 1 908 témoins en population générale, ne montrait pas de lien avec les utilisations de phénoxyherbicides. En revanche, l'exposition forte aux

chlorophénols, déterminée par une expertise spécifique des histoires professionnelles, était associée à une élévation significative du risque de sarcomes (OR = 2,10 ; IC 95 % [1,19-3,68]), encore plus marquée pour les expositions intenses durant plus de 10 ans (OR = 7,8 ; IC 95 % [2,46-24,65]) (Hoppin et coll., 1998). Une étude cas-témoins nichée dans un consortium international de 24 cohortes portait sur 11 cas de sarcomes (identifiés sur les certificats de décès ou par des registres) et 55 témoins, pour lesquels une estimation approfondie des expositions aux phénoxyherbicides et chlorophénols (menée en aveugle du statut cas-témoins) a permis de déterminer des durées et des scores cumulés d'exposition (sur la base des secteurs, tâches, équipements de protection...). Le risque était multiplié par 10 pour les expositions aux phénoxyherbicides globalement (OR = 10,3 ; IC 95 % [1,2-90,6]), et les risques étaient élevés pour le 2,4-D (OR = 5,7 ; IC 95 % [1,1-29]), le 2,4,5-T (OR = 4,3 ; IC 95 % [0,7-26]), le MCPA (OR = 11,3 ; IC 95 % [1,3-98]) ainsi que pour les dioxines, mais les résultats ne sont pas statistiquement significatifs car les effectifs sont faibles. En revanche, il n'était pas mis en évidence d'élévation du risque en lien avec les chlorophénols (Kogevinas et coll., 1995). Une étude canadienne, explorant un ensemble d'expositions agricoles, n'observait pas d'élévation de risque en lien avec les phénoxyherbicides (OR = 1,09 ; IC 95 % [0,81-1,48]) (Pahwa et coll., 2011). Au-delà des phénoxyherbicides, dans la suite de l'étude menée dans le Kansas, le lien avec des expositions agricoles a été exploré sous un angle élargi dans plusieurs pays.

Une étude en Italie du Nord analysait les histoires professionnelles de 93 cas (avec confirmation anatomopathologique) et 721 témoins hospitaliers et ne mettait pas en évidence de lien avec la profession agricole ou l'usage d'herbicides et de pesticides (Serraino et coll., 1992). De même, la profession agricole n'était pas montrée associée au risque de sarcome dans une étude menée à partir des registres des cancers des États-Unis parmi les vétérans du Vietnam (243 cas et 1 620 témoins en population générale) (Briggs et coll., 2003). Une étude canadienne menée dans 6 provinces, portant sur 357 cas recrutés à partir des registres de cancer et hôpitaux au Québec disposant d'une expertise anatomopathologique, et de 1 506 témoins en population générale, a estimé les expositions professionnelles aux grandes classes de pesticides, à certaines substances ciblées, ainsi que l'exposition aux élevages. Il n'était pas observé de lien avec les herbicides considérés de manière globale. Une tendance à l'élévation du risque non significative était montrée avec les insecticides et les fongicides ainsi qu'avec le traitement des semences de pommes de terre (Pahwa et coll., 2003). Par ailleurs, un risque significatif chez les éleveurs de poulets était mis en évidence (OR = 1,63 ; IC 95 % [1,11-2,28]), de même qu'une tendance pour les éleveurs de moutons et de

petits animaux (Hossain et coll., 2007). Les analyses portant sur des substances actives spécifiques montraient des liens avec l'aldrine (OR = 3,71 ; IC 95 % [1,00-13,76]) et le diazinon (OR = 3,31 ; IC 95 % [1,78-6,23]). Le lien avec le diazinon était plus particulièrement observé pour les sarcomes indifférenciés ainsi que les sarcomes fibromateux et myomateux (Pahwa et coll., 2011).

Certaines de ces études cas-témoins ont également apporté des connaissances sur les risques associés à des professions non agricoles potentiellement exposées aux pesticides. Ainsi l'étude menée à partir des registres de cancer des États-Unis parmi les vétérans du Vietnam, montrait une élévation significative du risque pour les hommes afro-américains exposés aux poussières de bois (OR = 3,7 ; IC 95 % [1,6-8,6]) et une tendance pour ceux qui travaillaient dans des scieries (OR = 2,9 ; IC 95 % [0,9-9,1]) (Briggs et coll., 2003). L'étude canadienne mettait en évidence un doublement de risque pour les personnes chargées de l'entretien des immeubles (OR = 2,18 ; IC 95 % [1,12-4,24]) et une tendance pour les ouvriers des papeteries et les travailleurs désherbant les voiries (Hossain et coll., 2007).

Une étude cas-témoins sur l'étiologie des sarcomes a été mise en place en France en 2019, qui produira dans les prochaines années des données nouvelles sur le rôle des facteurs professionnels, et en particulier des pesticides, dans la survenue de ces tumeurs (Lacourt et coll., 2019).

Conclusion

Une dizaine d'études de cohortes et une quinzaine d'analyses cas-témoins ont à ce jour exploré le lien entre les pesticides et les sarcomes des tissus mous et des viscères. Une attention particulière a été portée à deux familles de pesticides : les phénoxyherbicides et les chlorophénols, notamment dans les années 1970 et 1980 suite à des études cas-témoins suédoises qui montraient des associations particulièrement fortes avec ces substances. La contamination de ces pesticides par des dioxines lors de certains procédés de fabrication semblait pouvoir en partie expliquer les résultats et la divergence entre les études des différents pays. Mais les divergences pouvaient aussi s'expliquer par des différences méthodologiques, notamment les difficultés de caractérisation des cas (simple repérage sur des codes de la classification internationale des maladies ou caractérisation histopathologique précise, prise en compte de l'ensemble des sarcomes ou de sous-ensembles), ainsi que le choix des groupes (témoins sélectionnés en population générale ou parmi d'autres cas de cancer des registres), ou encore la caractérisation des

expositions (simple intitulé d'emploi ou enquête détaillée sur la nature des expositions, leurs durées, leurs intensités). Par ailleurs la rareté de la maladie s'accompagnait d'estimations instables, basées sur des nombres de cas très limités, en particulier dans les cohortes. Les analyses n'étaient généralement pas ajustées sur d'autres facteurs, compte tenu d'une part des effectifs limités et d'autre part de l'absence de facteur de risque clairement identifié. Au final, si le rôle de dioxines était plausible dans les études portant sur des populations exposées de manière importante au 2,4,5-T, on ne pouvait pas conclure sur le rôle propre des phénoxyherbicides et des chlorophénols, ni même sur celui d'autres pesticides dans la survenue de ces tumeurs. À partir des années 1990, de nouvelles études ont suggéré des liens avec des insecticides, notamment dans le traitement des animaux d'élevage, ainsi que des élévations de risque dans d'autres contextes professionnels tels que les métiers du bois.

Tableau 15.I : Études de cohortes sur le lien entre exposition aux phénoxyherbicides et aux chlorophénols et les sarcomes des tissus mous

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Wiklund et Holm., 1986 Suède	Cohorte rétrospective	Hommes nés entre 1891 et 1940 Exposés : 354 620, travaillant en agriculture ou forêts Non exposés : 1 725 845 dans autres secteurs	Cas du registre 1961-79 n = 331 tumeurs malignes‡ 3 périodes : 1961-6, 1967-73, 1974-9	Non disponible mais estimée à 15 % des personnes employées en agriculture et dans les forêts	Six sous-cohortes selon l'activité professionnelle en 1960 : *i*) agriculteurs (MCPA++, 2,4-D et 2,4,5-T) ; *ii*) plantation /pépinières forestières (2,4,5-T jusqu'en 1977 et 2,4-D) ; *iii*) bûcherons (expositions passives 2,4,5-T jusqu'en 1977 et 2,4-D) ; *iv*) horticulteurs (autres herbicides) ; *v*) vétérinaires, éleveurs animaux à fourrure et autres travaux agricoles (expositions diverses) ; *vi*) autres travaux forestiers (expositions diverses)	Âge (stratification) Lieu de domicile (pays et 3 grandes villes : Stockholm, Göteborg, Malmö)	Pas d'élévation de risque dans les sous-cohortes Pas d'élévation de risque selon les périodes Aucune élévation significative pour un type de sarcome, globalement et pour les sous-cohortes
Asp et coll., 1994 Finlande	Cohorte prospective	Applicateurs d'herbicides de 4 entreprises de désherbage inclus en 1972 ; n = 1 909	Suivi de 18 années Décès en 1989 : n = 384, dont 77 cancers	Médiane de la durée d'exposition : 4 semaines avant 1972 et 6 semaines après 1988	Exposition au moins deux semaines au 2,4-D et 2,4,5-T entre 1955 et 1971 Interdiction du 2,4,5-T en 1980 Remplacement par du 2,4-D et du MCPA Questionnaire adressé en 1988 : recueil de l'ensemble du calendrier professionnel	Tabagisme	Aucun cas de sarcome des tissus mous identifié au cours du suivi

Tableau 15.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Hansen et coll., 2007 Danemark	Cohorte rétrospective	Jardiniers (affiliés à un syndicat) suivis entre 1975-2001 n = 3 156 hommes n = 521 cas cancer dont 4 sarcomes des tissus mous	Sarcomes des tissus mous Registre des cancers danois Comparaison population générale	Tous exposés référence externe	Proxy d'exposition : cohorte de naissance Plus exposés : nés < 1915 Exposition intermédiaire : nés entre 1915-34 Moins exposés : nés > 1935 Tâches exposantes : serres, pépinières, parcs, cimetières... Exposés lors des traitements et réentrée	Âge Période	SIR = 1,96 [0,53-5,02] Plus exposés SIR = 5,87 [1,89-18,20]* Intermédiaire : pas de cas Moins exposés SIR = 1,82 [0,26-12,89]
Ott et coll., 1987 États-Unis (Michigan)	Cohorte rétrospective	Hommes, employés de l'usine de production du 2,4,5-T entre 1940-80 ; n = 2 187 Décès jusqu'en 1982 (n = 370, dont 81 cancers) Comparaison au nombre attendu (données américaines) Recherche des personnels ayant quitté l'usine		756 hommes exposés en production ou finalisation du chlorophénol entre 1937-80	Histoires professionnelles, tâches exposantes selon le procédé de fabrication du 2,4,5-TP. Mesures de TCDD Calcul de scores d'intensité d'exposition au TCDD et au H/OCDD (selon procédé) Estimation de la chloracné		Un cas de sarcome des tissus mous dans la période d'étude, invalidé par l'expertise Un cas en 1983, après la période de suivi

Tableau 15.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Collins et coll., 2009 États-Unis (Michigan)	Cohorte rétrospective	Travailleurs exposés au 2,4,5-T et trichlorophénol ; n = 1 615	Certificats de décès (CIM) : toutes causes de cancer ; n = 177 Date de point = 2003	Tous exposés, référence externe	Mesure de TCDD sanguine pour estimer l'exposition au trichlorophénol et 2,4,5-T produits entre 1942-82 dans un échantillon de 17 % (n = 280). Modélisation pour l'ensemble des travailleurs par rapport aux métiers (hygiène industrielle)	Exposition au PCP (n = 196 travailleurs)	Sarcome tissus mous : 4 décès (3 histiocytomes malins fibreux et 1 angiosarcome) SMR = 4,1 [1,1-10,5]*
Ruder et Yiin, 2011 États-Unis (Michigan, Illinois, Washington, Kansas)	Cohorte prospective	Industrie du PCP Statut vital en 2005 /plusieurs bases (assurance maladie, impôts, permis, poste, base décès) Comparaison population US	Causes de décès : CIM code 171	2 122 travailleurs (97 % hommes) exposés au PCP pour une durée de 1,9 ± 3,93 ans Sous-cohorte de 720 travailleurs co-exposés au TCDD	Histoire professionnelle (Registre « Dioxine » NIOSH) jusqu'en 1992 (fin du PCP) Nombre de jours d'exposition Co-expositions à d'autres pesticides/substances diverses Prise en compte de l'exposition au TCDD		2 décès par sarcome : 1 homme, 1 femme SMR = 1,52 [0,18-5,48]
Lynge, 1998 Danemark	Cohorte prospective	Employés de l'industrie des phénoxyherbicides avant 1982 / 2 sites ; n = 4 461 Identification des cas entre 1943-93 Registre national de population pour suivre les décès Registre des cancers (depuis 1943)	CIM-7 avant 1978 puis CIM-O (intègre sarcomes viscéraux) Regroupement des sarcomes d'organes avec les sarcomes des tissus conjonctifs Comparaison à la population générale : SIR	2 119 personnes considérées exposées aux phénoxyherbicides	Données par département dans les 2 usines et par tâches (données RH) Données de production du MCPA, 2,4-DP, MCPP, 2,4-D Production négligeable de 2,4,5-T sur un des 2 sites Exposition jusqu'en 1981	Autres substances produites telles que DDT, parathion, dinosèbe Colles et pigments également produits	4 cas de sarcomes jusqu'en 1993 Risque augmenté de sarcome chez les hommes SIR = 2,18 [0,6-5,6] Moins marqué chez les femmes SIR = 1,62 [0,4-4,1] Risque plus particulier dans la manufacture (1 cas) et l'emballage des phénoxyherbicides (3 cas)

Tableau 15.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Coggon et coll., 2015 Royaume-Uni	Cohorte prospective et cas-témoins nichée	Employés de 5 usines de production phénoxyherbicides (2,4-D, MCPA, 2,4,5-T) et une cohorte d'applicateurs de MCPA ; n = 8 036 Croisement avec assurance maladie ; comparaison incidence et décès : Angleterre et Pays de Galle 11 cas supplémentaires recensés (bases de mortalité, registres de cancer) *versus* témoins (n = 150) appariés sur âge (± 2 ans)	Cancers incidents Causes de décès : CIM-9 code 171 (jusqu'en 2000) ou CIM-10 codes C46, C47, C49 n = 4 093 décès, dont 1 205 décès par cancer tous types confondus		Durée et probabilité d'exposition		4 décès par sarcome des tissus mous dans la cohorte (3,3 attendus ; non significatif) Exposition potentielle aux phénoxyherbicides OR = 1,22 [0,33-3,13] Exposition potentielle aux phénoxyherbicides > 1 an OR = 2,05 [0,42-5,98] Enquête cas-témoins nichée montre un excès de risque OR = 1,30 [0,30-5,62]

Tableau 15.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Kogevinas et coll., 1997 Allemagne, Australie, Autriche, Canada, Danemark, États-Unis, Finlande, Italie, Pays-Bas, Nouvelle-Zélande, Royaume-Uni, Suède	36 cohortes de travailleurs de l'industrie et application de phénoxyherbicides, chlorophénols n = 26 615 Cas sarcomes des tissus mous	Certificat de décès (causes principales et associées) et registres existants	CIM-9, code 171	Expositions sur la période 1939-92 21 863 exposés (82 %) : analyse restreinte à cette population 13 831 exposés à phénoxyherbicides contaminés par TCDD (52 %)	Histoire professionnelle : emplois en production, maintenance, autres, tâches non spécifiques, applicateurs Questionnaire dans chaque usine sur procédures, produits (périodes et volumes), accidents Exposés au TCDD et autres dioxines plus chlorées Mesures de TCDD dans un sous-échantillon (n = 573)	Pays, âge, sexe, latence et durée d'exposition, statut professionnel	9 cas de sarcomes Exposition aux phénoxyherbicides ou chlorophénols OR = 2,0 [0,91-3,79] Exposition au TCDD OR = 2,03 [0,75-4,43] Exposition au TCDD durée 10-19 ans OR = 6,52 [1,35-19,06]* Pas d'exposition aux TCDD OR = 1,35 [0,16-4,88]

‡ Angiosarcomes, tumeurs hémangiomateuses du système nerveux, leiomyosarcomes, fibrosarcomes, histiocytomes fibreux, myxosarcomes, liposarcomes, rhabdomyosarcomes, synoviosarcomes et autres sarcomes des tissus mous ; 2,4-DP : Dichlorprop (n° CAS : 120-36-5) ; ATCD : Antécédents ; CIM-O : Classification Internationale des Maladies pour l'Oncologie ; DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane (n° CAS : 50-29-3) ; H/OCDD : Dioxines fortement chlorées (congénères hexa, hepta et octa chlorés) ; MCPA : acide 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique (n° CAS : 94-74-6) ; MCPP : Mécoprop (n° CAS : 93-65-2) ; NIOSH : *National Institute for Occupational Safety and Health* ; PCP : pentachlorophénol ; SIR : rapport standardisé d'incidence (*Standardized Incidence Ratio*) ; SMR : rapport standardisé de mortalité (*Standardized Mortality Ratio*) ; TCDD : 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (n° CAS : 1746-01-6). Les intervalles de confiance donnés entre parenthèses sont les intervalles de 95 %, sauf si indiqué différemment.
* : statistiquement significatif au seuil d'erreur de 5 %

Tableau 15.II : Études cas-témoins sur le lien entre exposition aux phénoxyherbicides et aux chlorophénols et les sarcomes des tissus mous

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Hardell et Sandström, 1979 Suède	Cas-témoins	Cas : Service oncologie de l'hôpital d'Umeå 1970-77 ; n = 52 Témoins : Registre national de population Appariés sur lieu de résidence, âge (± 5 ans), sexe, année de décès ; n = 208	Sarcomes des tissus mous Patients vivants ou décédés	Phénoxyherbicides : exposition de 36,5 % des cas et 9,2 % des témoins	Questionnaire postal incluant des nuisances chimiques (dont les phénoxyherbicides et chlorophénols) Questionnaire auprès des employeurs et des scieries (dates d'emplois, produits utilisés) : taux de réponse respectivement de 40 % et 97 % Prise en compte de l'exposition si > un jour et latence de 5 ans	Tabagisme	Phénoxyherbicides ou chlorophénols OR = 5,7 [2,9-11,3]* Phénoxyherbicides seuls OR = 5,3 [2,1-11,5]* Chlorophénols seuls OR = 6,6 $P < 0,001$
Eriksson et coll., 1981 Suède (Malmöhus, Kristianstad, Blekinge, Kronoberg, Halland)	Cas-témoins	Cas : registre des cancers, diagnostiqués en 1974-8 ; n = 110 Témoins : Registre national de population ou base des causes de décès. Appariés sur lieu de résidence, âge (± 5 ans), sexe, année de décès ; n = 220	Patients vivants ou décédés Expertise par deux anapath	Phénoxyherbicides ou chlorophénols : exposition de 22,7 % des cas et 5,9 % des témoins	Questionnaire postal sur les professions et nuisances, +/- complété par appel téléphonique, en aveugle du statut cas/témoins Questionnaire complémentaire téléphonique si travail en agriculture, forêt ou horticulture Exposition > 1 jour Pour les chlorophénols : exposition > 1 mois Latence de 5 ans	Prise de clofibrate (son métabolite actif est un acide phénoxy-propionique) DDT Solvants organiques Mercure (traitement de semences)	Phénoxyherbicides OR = 6,8 [2,6-17,3]* Chlorophénols OR = 3,3 [1,3-8,1]*

Tableau 15.II : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Balarajan et Acheson, 1984 Angleterre, Pays de Galles	Cas-témoins	Hommes > 15 ans Cas : registres régionaux de cancer Diagnostiqués en 1968-76 ; n = 1 961 Témoins : autres cancers, appariés sur l'âge, lieu de résidence ; n = 1 961	CIM-8 : code 171 (exclusion des sarcomes viscéraux)		Information sur la profession au moment du diagnostic		Métiers en agriculture (globalement) OR = 1,15 [0,83-1,59] Agriculteurs, exploitants agricoles et maraîchers OR = 1,7 [1,00-2,88]*
Smith et coll., 1984 Nouvelle-Zélande	Cas-témoins	Calcul de l'incidence et taux de mortalité Cas : Registre national des cancers et bases de données sur les décès entre 1976-80 ; n = 112 (82 interrogés) Témoins : tirés au sort parmi autres cancers, appariés sur l'âge ; n = 92	CIM-9 : code 171 Récupération des compte-rendus anapath	36 % d'agriculteurs chez les cas et 48 % chez les témoins 16 % d'applicateurs chez les cas et 17 % chez les témoins 21 % travailleurs sur voies ferrées dans les cas et 8 % chez les témoins	Utilisations aériennes et agricoles de 2,4,5-T Entretiens téléphoniques en aveugle du statut Questions sur les métiers exposant aux phénoxyherbicides et chlorophénols Questions spécifiques en fonction des réponses sur les métiers	Année de naissance, année de diagnostic	Exposition aux pesticides [IC 90 %] Épandage de pesticides agricoles OR = 1,1 [0,7-2,0] Exposition potentielle aux phénoxyherbicides OR = 1,3 [0,7-2,5] Exposition potentielle aux phénoxyherbicides - latence 5 ans OR = 1,3 [0,6-2,5] Exposition probable/certaine aux phénoxyherbicides latence 5 ans OR = 1,6 [0,7-3,3] latence 10 ans OR = 1,3 [0,6-2,9] Élévation du risque (x 7) dans les abattoirs et dans le travail des peaux (exposition supposée aux chlorophénols)

Tableau 15.II : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Vineis et coll., 1987 Italie du Nord	Cas-témoins	Cas : Turin, Milan et 3 hôpitaux en province ; n = 68 Témoins : listes électorales et registres de décès des communes ; n = 158	Exclusion des sarcomes viscéraux		Région productrice de riz (à partir de 1955 : 2,4-D, MCPA, 2,4,5-T jusqu'en 1970) Questionnaire en face à face ou postal pour ceux qui refusent l'entretien : calendrier professionnel, histoire résidentielle, détails sur les cultures, herbicides et pesticides Double expertise en aveugle	Tabagisme Variables socio-économiques Radiothérapie Autres métiers exposants : scieries, papeterie, industrie du cuir, maintenance voies ferrées, jardinage	Hommes OR = 0 91 ; IC 90 % [0,21-3,91] Femmes OR = 2,42 ; IC 90 % [0,56-10,34]
Hoar et coll., 1986 États-Unis (Kansas)	Cas-témoins	Hommes blancs ≥ 21 ans Cas : diagnostiqués en 1976-82 ; n = 133 Témoins : listes téléphoniques (< 65 ans), administration de protection sociale (≥ 65 ans), bases des décès du Kansas ; n = 948	Registre des cancers du Kansas (Université du Kansas) Expertise anapath	29 % d'agriculteurs chez les cas et 30 % chez les témoins 34,6 % d'utilisateurs d'insecticides sur animaux chez les cas et 22,6 % chez les témoins	Entretien téléphonique Zones de culture de blé, usages de 2,4-D et 2,4,5-T Questions sur les cultures (blé, maïs, sorgho ou prairie) soit 94 % des surfaces agricoles du Kansas et les élevages, lieu et taille des fermes, utilisations d'insecticides et d'herbicides (années, surfaces, mode d'application, EPI) Vérification des pesticides auprès des distributeurs pour n = 130 sujets	Âge (stratification)	Avoir été agriculteur ou avoir vécu sur une ferme OR = 1,0 [0,7-1,6] Utilisation d'herbicides OR = 0,9 [0,5-1,6] Pas de tendance en lien avec la durée ou la fréquence d'utilisation d'herbicides

Tableau 15.II : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Woods et coll., 1987 États-Unis (Washington)	Cas-témoins	Hommes 20-79 ans Cas : Registre ouest État Washington 1981-84 (n = 128, dont 31 décédés) Témoins : listes téléphoniques (< 65 ans) puis assurance maladie (n = 475), certificats de décès (n = 219) Appariement de fréquence sur l'âge	Codes CIM-O (listés) Expertise anapath	30 % d'agriculteurs 8 % de personnes travaillant dans zones traitées par des phénoxyherbicides 13 % de personnes travaillant à la production du bois 3 % de charpentiers	Entretien en face à face Histoire résidentielle, militaire, médicale, et questions sur les utilisations d'herbicides, de chlorophénols et autres produits chimiques Vérifications auprès des entreprises pour les expositions aux herbicides et chlorophénols	Maladies immunologiques, traitements immuno-suppresseurs ATCD familiaux de cancer ou maladie immunologique Âge	**Exposition phénoxyherbicides** Applicateurs (pro) OR = 1,77 [0,5-6,6] Application/ferme OR = 1,35 [0,5-3,3] Agriculteur OR = 1,34 [0,7-2,6] **Exposition élevée chlorophénols** Inspecteur bois œuvre OR = 4,8 [0,6-38,2] Travailleur du bois OR = 1,27 [0,7-2,3] Charpentier OR = 2,66 [1,1-6,4]*
Hoar Zahm et coll., 1988 États-Unis (Kansas)	Cas-témoins	Hommes ≥ 21 ans Porte également sur la maladie de Hodgkin Cas : diagnostiqués en 1976-82 ; n = 133 Témoins : listes téléphoniques (< 65 ans), administration de protection sociale (≥ 65 ans), bases des décès du Kansas ; n = 948	Registre des cancers du Kansas	29 % d'agriculteurs chez les cas et 30 % chez les témoins 34,6 % d'utilisateurs d'insecticides sur animaux chez les cas et 22,6 % chez les témoins	Entretien téléphonique Questions sur les cultures et les élevages, lieu et taille des fermes, utilisations d'insecticides et d'herbicides (années, surfaces, mode d'application, équipement de protection individuel)	Âge (stratification)	Pas d'association avec le traitement des cultures Réalisation de traitement des animaux avec des insecticides OR = 1,7 [1,0-2,9]* Tendance à des risques plus élevés pour les périodes les plus anciennes (avant 1956), pour les pulvérisations et les poudrages, chez ceux qui ne portaient pas d'équipement de protection Risques principalement pour les sarcomes fibreux (OR = 2,3 [0,8-7,2]) et myomateux (OR = 2,6 [1,0-7,3]*)

Tableau 15.II : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Wingren et coll., 1990 Suède	Cas-témoins	Hommes 25-80 ans Cas : registre des cancers, 1975-82 n = 71 (dont 39 décédés) Témoins : pop générale (n = 315) et autres cancers (n = 164)	Codes CIM-7 : 174, 196 (sauf ostéosarcomes) et 197		Questionnaire postal : historique professionnel, questions spécifiques/pesticides, traitements bois, solvants, autres produits chimiques Questionnaire téléphonique pour agriculteurs et forestiers : question sur les pesticides	Tabagisme, âge	Jardiniers OR = 4,1 ; IC 90 % [1,0-14]* Ouvriers chemin fer OR = 3,1 ; IC 90 % [0,6-14] Exposition possible aux chlorophénols ou phénoxyherbicides OR = 1,6 ; IC 90 % [0,8-3, 3] Agriculteurs OR = 1,3 ; IC 90 % [0,6-2,6]
Smith et Christophers, 1992 Australie	Cas-témoins	Hommes > 30 ans, hôpitaux à Melbourne, vivants Cas : registre cancer de Victoria, diagnostiqués à partir de 1976 ; n = 30 Témoins : autres cas cancer (n = 30) et pop générale (listes électorales) (n = 30), appariés sur âge, sexe	CIM-9 codes 171, 173, 152 et 158	17 % d'exposition certaine chez les cas et 10 % d'exposition possible	Entretien en face à face en aveugle du statut cas/témoins Histoire professionnelle Questions sur pesticides, herbicides, traitement bois Questions « leurres » sur amiante et plomb Expertise de l'exposition aux phénoxyherbicides et chlorophénols : non, possible, certaine (± 1 jour) Latence de 5 ans	Niveau d'études, alcool, tabagisme Hypertension, hypercholestérolémie, médicaments (clofibrate)	Phénoxyherbicides/ Chlorophénols > 1 jour OR = 1,0 [0,3-3,1] > 30 jours OR = 2,0 [0,5-8,0]

Tableau 15.II : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Serraino et coll., 1992 Italie Nord-Est	Cas-témoins	Cas : *Aviano Cancer Center* et hôpitaux de la région, 16-79 ans ; n = 93 Témoins hospitaliers : 17-79 ans (TMS 32 %, traumatismes 28 %, petite chirurgie 17 %) ; n = 721	Confirmation histologique Tumeurs : fibreuses 43 %, myomateuses 17 %, liposarcomes 13 %, autres 27 % Sarcomes viscéraux et Kaposi exclus	20,5 % agriculteurs chez les cas et 25,4 % chez les témoins Exposition aux pesticides/herbicides : 6,4 % chez les cas et 11,8 % chez les témoins	Histoire professionnelle avec les secteurs et les métiers, et exposition à 15 agents ou groupes d'agents	Niveau d'études, tabagisme, alcool, alimentation, ATCD médicaux	Agriculture > 10 ans OR = 0,8 [0,4-1,5] Herbicides ou pesticides OR = 0,4 [0,1-1,2] En revanche, association avec produits chimiques hors pesticides
Hoppin et coll., 1998 États-Unis (Connecticut, Kansas, Iowa, Floride, Détroit, San Francisco, Seattle, Atlanta)	Cas-témoins *Selected cancers study group*	Hommes nés entre 1929-53, vivants Cas : diagnostiqués en 1984-8, dans 8 zones où registres de cancer ; n = 259 Témoins : listes téléphoniques, appariement de fréquence sur âge et zone géographique ; n = 1 908	CIM-O Cas confirmés Exclusion des mésothéliomes, sarcomes de Kaposi, maladie de von Recklinghausen, syndrome de Gardner, SIDA Inclusion des sarcomes viscéraux	Témoins : 23 % exposés aux chlorophénols	Entretien téléphonique : service militaire, utilisation de phénoxyherbicide, histoire professionnelle (emplois, années), utilisation d'huiles de coupe et de traitements du bois, métiers du cuir, scieries Expertise de l'exposition aux chlorophénols à partir de l'histoire professionnelle : intensité (nulle ou basse, moyenne, forte), niveau de confiance, durée	ATCD personnels, ethnie ; ATCD d'irradiation, chimiothérapie, utilisation d'herbicides, amiante	Cas ont plus souvent utilisé des herbicides Pas de différence dans l'usage de phénoxyherbicides Chlorophénols Globalement : OR = 1,06 [0,78-1,43] Intensité forte : OR = 2,10 [1,19-3,68]* Durée plus longue chez les cas : 8 ans *versus* 3 ans Exposition conséquente et > 10 ans OR = 7,7 [2,46-24,65]*

Tableau 15.II : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Briggs et coll., 2003 États-Unis	Cas-témoins	Hommes non hispaniques Cas : diagnostiqués en 1984-8, vétérans du Vietnam, 32-60 ans ; n = 243 Témoins : pop générale (listes téléphoniques) appariement de fréquence sur âge et lieu de résidence ; n = 1 620	Registre des cancers des États Sauf Kaposi et mésothéliome Expertise anapath 335 tissus mous (51 osseux exclus) Exclusion SIDA, Syndromes de Recklinghausen et de Gardner	10,2 % des cas et 11 % de témoins exposés aux pesticides	Pas de questionnaire auprès des proches Entretiens téléphoniques Histoire professionnelle	Niveau d'études, ATCD médicaux, habitudes de vie, ethnie (Afro-Américains, Blancs)	Pas d'élévation de risque chez les hommes blancs Chez les hommes afro-américains : Agriculteurs OR = 1,1 [0,5-2,3] Poussière bois OR = 3,7 [1,6-8,6]* Scieries OR = 2,9 [0,9-9,1] Pesticides OR = 2,7 [0,8-9,0]
Pahwa et coll., 2003 Canada (6 provinces)	Cas-témoins *Cross Canada Study of Pesticides and Health*	Hommes > 19 ans Cas : diagnostiqués 1991-94 Registres cancer et hôpitaux au Québec ; n = 357. Analyse sur ceux ayant vécu ou travaillé sur une ferme ; n = 159 Témoins : assurance maladie, listes téléphoniques et électorales Appariés sur l'âge (± 2 ans) et lieu de résidence ; n = 1 506. Analyse sur ceux ayant vécu ou travaillé sur une ferme ; n = 673	CIM-9 code 171 et codes morphologiques sélectionnés	43,6 % des cas ont travaillé ou vécu sur une ferme et 44,7 % des témoins Nombre d'années en agriculture : 39,2 chez les cas et 32,0 chez les témoins	Auto-questionnaire postal : calendrier professionnel et expositions professionnelles Exposition à des animaux d'élevage (bovins, chiens, chats, poulets, chevaux, cochons, dindes, canards, oies, moutons, lapins, chèvres, animaux exotiques) Exposition à des classes de pesticides : herbicides, insecticides, fongicides, algicides (≥ 10 h par an)	ATCD familiaux incluant des maladies génétiques, et cancers ATCD personnels, tabagisme	Utilisation agricole : Herbicides OR = 0,90 [0,56-1,45] Insecticides OR = 1,26 [0,68-2,36] Fongicides OR = 1,40 [0,41-4,77] Traitement semences pommes de terre OR = 2,96 [0,70-12,2] Élevage de poulets OR = 1,63 [1,05-2,52]* Diminution du risque pour ceux qui ont trempé des moutons ou des bovins, utilisé des médicaments vétérinaires ou la créosote (pour le pansement de plaies)

Tableau 15.II : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Hossain et coll., 2007 Canada (6 provinces)	Cas-témoins *Cross Canada Study of Pesticides and Health*	Hommes > 19 ans Cas : diagnostiqués en 1991-94 Registres cancer et hôpitaux au Québec ; n = 357 Analyse sur ceux ayant vécu ou travaillé sur une ferme ; n = 159 Témoins : assurance maladie, listes téléphoniques et électorales Appariés sur l'âge (±2 ans) et lieu de résidence, n = 1 506	Revue histologique pour 59 % des cas		Auto-questionnaire postal : calendrier professionnel et expositions professionnelles Questionnaire spécifique/ agriculture, pratiques et usages pesticides Autres expositions professionnelles	ATCD familiaux incluant des maladies génétiques, et cancers ATCD personnels, tabagisme	Maintenance immeuble OR = 2,18 [1,12-4,24]* Élevage de poulets OR = 1,63 [1,11-2,38]* Ouvrier papeterie OR = 1,77 [0,98-3,21] Élevage de moutons OR = 1,70 [0,79-3,66] Élevage petits animaux OR = 1,63 [0,79-3,38] Nettoyage semences OR = 1,55 [0,69-3,50] Désherbage voirie OR = 1,50 [0,72-3,03]
Pahwa et coll., 2011 Canada (6 provinces)	Cas-témoins *Cross Canada Study of Pesticides and Health*	Hommes > 19 ans Cas : diagnostiqués en 1991-94 Registres cancer et hôpitaux au Québec ; n = 357 Témoins : assurance maladie, listes téléphoniques et électorales Appariés par âge (±2 ans) et lieu de résidence ; n = 1 506	CIM-O-3 M8800-14, M8810-13, M8830-32, M8840, M8850-60, M8890-8920, M8990-91, M9040-44, M9120-30, M9150-70, M9251-60, M9503, M9540-60, M9580-1	Exemples d'exposition chez les témoins Phénoxyherbicides 21 %, 2,4-D 16 % Organochlorés 16 % Organophosphorés 11 %, malathion 8 % Fongicides-amides 4 % Fongicides-mercure 3 %	Auto-questionnaire postal : calendrier professionnel et expositions professionnelles Questionnaire spécifique/ agriculture, pratiques et usages pesticides Questions familles et certains pesticides dont 2,4-D, MCPA, mécoprop, 2,4,5-T, glyphosate, diallate, bromoxynil, dicamba, trifluraline...	ATCD familiaux et personnels Âge, province	**Phénoxyherbicides** OR = 1,09 [0,81-1,48] **Autres herbicides** Pas d'élévation significative **Insecticides** Aldrine OR = 3,71 [1,00-13,76]* Diazinon OR = 3,31 [1,78-6,23]* Élévation pour le diazinon observée pour sarcomes indifférenciés, fibromateux et myomateux **Fongicides** Formaldéhyde OR = 2,07 [0,94-4,56]

Tableau 15.II : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Fréquence d'exposition	Méthode d'estimation de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Kogevinas et coll., 1995 Allemagne, Australie, Autriche, Canada, Danemark, Finlande, Italie, Pays-Bas, Nouvelle-Zélande	Cas-témoins nichée dans consortium de 24 cohortes Cas : sarcomes des tissus mous ; n = 11 Témoins : 5 par cas, appariés par âge, sexe, pays ; n = 55	Certificat de décès (causes principales et associées) et registres existants	CIM-9, code 171		Exposition pour les principaux phénoxyherbicides, chlorophénols et dioxines (21 produits chimiques revus par 3 hygiénistes en aveugle) Score cumulé sur la base d'une intensité estimée de 1 à 6 (ateliers, tâches, équipement de protection) et de la durée Latence de 5 ans	Exposition au DDT, arsenicaux, dinosèbe, lindane, organophosphorés, triazines	15 cas de sarcomes identifiés dont 11 identifiés par les registres Phénoxyherbicides OR = 10,3 [1,2-90,6]* 2,4-D OR = 5,7 [1,1-29]* 2,4,5-T OR = 4,3 [0,7-26] MCPA OR = 11,3 [1,3-98]* Dioxines OR = 5,2 [0,9-32] Pas de lien avec les chlorophénols ou autres substances Risques plus marqués pour les plus exposés Moins marqués lors d'ajustements mutuels sur les substances

ATCD : antécédents ; CIM-O : Classification Internationale des Maladies pour l'Oncologie ; DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane (n° CAS : 50-29-3) ; EPI : équipement de protection individuelle ; MCPA : acide 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique (n° CAS : 94-74-6). Les intervalles de confiance donnés entre parenthèses sont les intervalles de 95 %, sauf si indiqué différemment. * : statistiquement significatif au seuil d'erreur de 5 %

RÉFÉRENCES

• Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

Asp S, Riihimäki V, Hernberg S, *et al*. Mortality and cancer morbidity of Finnish chlorophenoxy herbicide applicators: an 18-year prospective follow-up. *Am J Ind Med* 1994 ; 26 : 243-53.

Balarajan R, Acheson ED. Soft tissue sarcomas in agriculture and forestry workers. *J Epidemiol Community Health* 1984 ; 38 : 113-6.

Briggs NC, Levine RS, Hall HI, *et al*. Occupational risk factors for selected cancers among African American and White men in the United States. *Am J Public Health* 2003 ; 93 : 1748-52.

Coggon D, Ntani G, Harris EC, *et al*. Soft tissue sarcoma, non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia in workers exposed to phenoxy herbicides: extended follow-up of a UK cohort. *Occup Environ Med* 2015 ; 72 : 435-41.

Cole Johnson C, Feingold M, Tilley B. A meta-analysis of exposure to phenoxy acid herbicides and chlorophenols in relation to risk of soft tissue sarcoma. *Int Arch Occup Environ Health* 1990 ; 62 : 513-20.

Collins JJ, Bodner K, Aylward LL, *et al*. Mortality rates among trichlorophenol workers with exposure to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Am J Epidemiol* 2009 ; 170 : 501-6. •

Cook RR. Dioxin, chloracne, and soft tissue sarcoma. *Lancet* 1981 ; 1 : 618-9.

Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, *et al*. *Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Synthèse*. Saint-Maurice : Santé publique France, 2019 : 20 p.

Ducimetière F, Lurkin A, Ranchère-Vince D., *et al*. Incidence of sarcoma histotypes and molecular subtypes in a prospective epidemiological study with central pathology review and molecular testing. *PLoS One* 2011 ; 6 : e20294.

Eriksson M, Hardell L, Berg NO, *et al*. Soft-tissue sarcomas and exposure to chemical substances : a case-referent study. *Br J Ind Med* 1981 ; 38 : 27-33.

Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, *et al*. *WHO Classification of tumours of soft tissue and bone*. World Health Organization Classification of Tumours. Lyon : International Agency for Research on Cancer, 2013 : 1 471 p.

Hansen ES, Lander F, Lauritsen JM. Time trends in cancer risk and pesticide exposure, a long-term follow-up of Danish gardeners. *Scand J Work Environ Health* 2007 ; 33 : 465-9.

Hardell L, Eriksson M, Degerman A. Metaanalysis of 4 Swedish case-control studies on exposure to pesticides as risk-factor for soft-tissue sarcoma including the relation to tumor-localization and histopathological type. *Int J Oncol* 1995 ; 6 : 847-51.

Hardell L, Sandström A. Case-control study : soft-tissue sarcomas and exposure to phenoxyacetic acids or chlorophenols. *Br J Cancer* 1979 ; 39 : 711-7.

Hoar Zahm S, Blair A, Holmes FF, *et al*. A case-referent study of soft-tissue sarcoma and Hodgkin's disease. Farming and insecticide use. *Scand J Work Environ Health* 1988 ; 14 : 224-30.

Hoar SK, Blair A, Holmes FF, *et al*. Agricultural herbicide use and risk of lymphoma and soft-tissue sarcoma. *JAMA* 1986 ; 256 : 1141-7.

Honchar PA, Halperin WE. 2,4,5-T, trichlorophenol, and soft tissue sarcoma. *The Lancet* 1981 ; 1 : 268-9.

Hoppin JA, Tolbert PE, Herrick RF, *et al*. Occupational chlorophenol exposure and soft tissue sarcoma risk among men aged 30-60 years. *Am J Epidemiol* 1998 ; 148 : 693-703.

Hossain A, McDuffie HH, Bickis MG, *et al*. Case-control study on occupational risk factors for soft-tissue sarcoma. *J Occup Environ Med* 2007 ; 49 : 1386-93.

Jayakody N, Harris EC, Coggon D. Phenoxy herbicides, soft-tissue sarcoma and non-Hodgkin lymphoma: a systematic review of evidence from cohort and case-control studies. *Br Med Bull* 2015 ; 114 : 75-94.

Johnson ES. Association between soft tissue sarcomas, malignant lymphomas, and phenoxy herbicides/chlorophenols: evidence from occupational cohort studies. *Fundam Appl Toxicol* 1990 ; 14 : 219-34.

Johnson FE, Kugler MA, Brown SM. Soft tissue sarcomas and chlorinated phenols. *Lancet* 1981 ; 2 : 40.

Kelly SJ, Guidotti TL. Phenoxyacetic acid herbicides and chlorophenols and the etiology of lymphoma and soft-tissue neoplasms. *Public Health Rev* 1989-1990 ; 17 : 1-37.

Kogevinas M, Becher H, Benn T, *et al*. Cancer mortality in workers exposed to phenoxy herbicides, chlorophenols, and dioxins. An expanded and updated international cohort study. *Am J Epidemiol* 1997 ; 145 : 1061-75.

Kogevinas M, Kauppinen T, Winkelmann R, *et al*. Soft tissue sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in workers exposed to phenoxy herbicides, chlorophenols, and dioxins: two nested case-control studies. *Epidemiology* 1995 ; 6 : 396-402.

Lacourt A, Amadéo B, Gramond C, *et al*. ETIOSARC study: environmental aetiology of sarcomas from a French prospective multicentric population-based case-control study-study protocol. *BMJ Open* 2019 ; 9 : e030013.

Lynge E. Cancer incidence in Danish phenoxy herbicide workers, 1947-1993. *Environ Health Perspect* 1998 ; 106 Suppl 2 : 683-8.

Lynge E, Storm HH, Jensen OM. The evaluation of trends in soft tissue sarcoma according to diagnostic criteria and consumption of phenoxy herbicides. *Cancer* 1987 ; 60 : 1896-901.

Lynge E. A follow-up study of cancer incidence among workers in manufacture of phenoxy herbicides in Denmark. *Br J Cancer* 1985 ; 52 : 259-70.

Moses M, Selikoff IJ. Soft tissue sarcomas, phenoxy herbicides, and chlorinated phenols. *Lancet* 1981 ; 1 : 1370.

Noone *et al*. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2015 : National Cancer Institute, 2018. https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/ [consulté le 09/04/2020].

Ott MG, Olson RA, Cook RR, *et al*. Cohort mortality study of chemical workers with potential exposure to the higher chlorinated dioxins. *J Occup Med* 1987 ; 29 : 422-9. •

Pahwa P, Karunanayake CP, Dosman JA, *et al*. Soft-tissue sarcoma and pesticides exposure in men: results of a Canadian case-control study. *J Occup Environ Med* 2011 ; 53 : 1279-86.

Pahwa P, McDuffie HH, Dosman JA, *et al*. Exposure to animals and selected risk factors among Canadian farm residents with Hodgkin's disease, multiple myeloma, or soft tissue sarcoma. *J Occup Environ Med* 2003 ; 45 : 857-68.

Riihimäki V, Asp S, Hernberg S. Mortality of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid herbicide applicators in Finland : first report of an ongoing prospective cohort study. *Scand J Work Environ Health* 1982 ; 8 : 37-42.

Ruder AM, Yiin JH. Mortality of US pentachlorophenol production workers through 2005. *Chemosphere* 2011 ; 83 : 851-61.

Serraino D, Franceschi S, La Vecchia C, *et al*. Occupation and soft-tissue sarcoma in northeastern Italy. *Cancer Causes Control* 1992 ; 3 : 25-30.

Smith AH, Pearce NE, Fisher DO, *et al*. Soft tissue sarcoma and exposure to phenoxyherbicides and chlorophenols in New Zealand. *J Natl Cancer Inst* 1984 ; 73 : 1111-7.

Smith JG, Christophers AJ. Phenoxy herbicides and chlorophenols: a case control study on soft tissue sarcoma and malignant lymphoma. *Br J Cancer* 1992 ; 65 : 442-8.

Stiller CA, Trama A, Serraino D, *et al*. Descriptive epidemiology of sarcomas in Europe: report from the RARECARE project. *Eur J Cancer* 2013 ; 49 : 684-95.

Vineis P, Terracini B, Ciccone G, *et al*. Phenoxy herbicides and soft-tissue sarcomas in female rice weeders. A population-based case-referent study. *Scand J Work Environ Health* 1987 ; 13 : 9-17.

Wiklund K, Holm LE. Soft tissue sarcoma risk in Swedish agricultural and forestry workers. *J Natl Cancer Inst* 1986 ; 76 : 229-34.

Wingren G, Fredrikson M, Brage HN, *et al*. Soft tissue sarcoma and occupational exposures. *Cancer* 1990 ; 66 : 806-11.

Woods JS, Polissar L, Severson RK, *et al*. Soft tissue sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma in relation to phenoxyherbicide and chlorinated phenol exposure in western Washington. *J Natl Cancer Inst* 1987 ; 78 : 899-910.

Zack JA, Gaffey WR. A mortality study of workers employed at the Monsanto Company plant in Nitro, West Virginia. In : Tucker RE, Young AL, Gray AP, eds. *Human and environmental risks of chlorinated dioxins and related compounds*. Boston, MA : Springer US, 1983 : 575-91. •

III

Autres pathologies et évènements de santé

16
Santé respiratoire

L'objet de ce chapitre est de faire un état des lieux sur l'impact de l'exposition aux pesticides sur la santé respiratoire et plus précisément la fonction ventilatoire, l'asthme, la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), la bronchite chronique et les symptômes respiratoires associés à l'asthme ou la BPCO. La pathologie tumorale pulmonaire est traitée dans un autre chapitre, dans la partie « Communications » en fin d'ouvrage.

Introduction : la santé respiratoire

La fonction ventilatoire

La fonction respiratoire (respiration) assurée par l'appareil respiratoire, sert à approvisionner l'organisme en oxygène pour répondre aux besoins des organes qui en consomment pour leur activité. La respiration est associée à deux fonctions : la ventilation et l'échange des gaz entre l'air et le sang au niveau des alvéoles pulmonaires. La ventilation correspond aux mouvements d'inspiration et d'expiration. La spirométrie, l'examen le plus utilisé pour mesurer objectivement la fonction ventilatoire est centrale dans le diagnostic, la prise en charge et le suivi de certaines maladies, notamment les maladies obstructives chroniques telles que l'asthme et la BPCO. Cet examen permet de mesurer les volumes pulmonaires et les débits bronchiques des individus. Il consiste à réaliser des manœuvres respiratoires, dont certaines forcées, à travers un embout buccal relié à un spiromètre (dispositif de mesure des volumes et débits). Plus les voies aériennes sont obstruées, plus le débit d'air expiré est faible.

Une spirométrie permet de tracer les courbes débits-volumes (figure 16.1) à partir desquelles différents paramètres sont mesurés, et en particulier :

- CVF : capacité vitale forcée, qui mesure le volume pulmonaire mobilisable ;
- VEMS : volume expiratoire maximal seconde, qui mesure le volume d'air

expiré en une seconde. C'est un indicateur de la sévérité de l'obstruction bronchique ;

• DEP : débit expiratoire de pointe qui représente le débit maximum atteint lors d'une manœuvre d'expiration forcée ;

• DEM_{25-75} : débit expiratoire maximal médian entre 25 % et 75 % de la CVF. C'est un marqueur de l'obstruction des petites voies aériennes ;

• VEMS/CVF : rapport de Tiffeneau. Un patient sain expire environ 80 % de sa CVF pendant la première seconde. Chez un patient avec une obstruction bronchique, ce rapport est en dessous de 70 %.

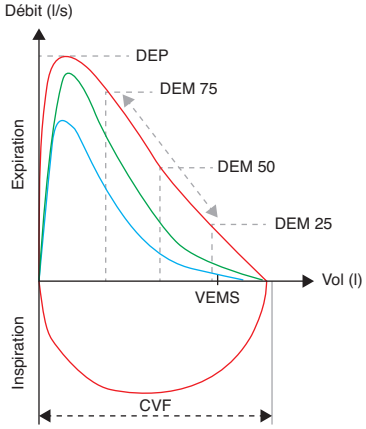


Figure 16.1 : Courbes débit-volume normales (rouges) et dans le cas d'un trouble ventilatoire obstructif léger (verte) ou sévère (bleue)

Les résultats, tant pour les volumes que les débits, sont souvent exprimés en pourcentage par rapport à une personne en bonne santé, du même âge, sexe et taille que le sujet. Une spirométrie avec mesure de la réponse aux bronchodilatateurs (BD) est requise pour le diagnostic de la BPCO et de l'asthme, et est parfois réalisée dans les études épidémiologiques. La comparaison des mesures pré- et post-bronchodilatation permet d'évaluer la réversibilité de l'obstruction. Dans l'asthme, l'obstruction est le plus souvent partiellement ou totalement réversible, alors que dans la BPCO, l'obstruction est définie par le rapport VEMS/CVF qui reste abaissé (< 0,7) même après administration de BD.

L'asthme, les sifflements

L'asthme est la maladie chronique la plus fréquente chez les enfants. Les études internationales, ISAAC (*International Study of Asthma and Allergies in*

Childhood) conduite chez les enfants et adolescents (ISAAC, 1998) et ECRHS (*European Community Respiratory Health Survey*) conduite chez les adultes (ECRHS, 1996), ont mis en évidence des contrastes importants de la prévalence de symptômes d'asthme ou de l'asthme entre zones géographiques. La prévalence des sifflements dans les 12 derniers mois, variait selon les pays de 2,1 % à 32,2 % chez les 13-14 ans et de 4,1 % à 32,1 % chez les 6-7 ans. Chez les adultes âgés de 20-44 ans, la prévalence de l'asthme diagnostiqué par un médecin variait de 2,0 % à Tartu en Estonie à 11,9 % à Melbourne en Australie dans l'étude ECRHS. En France, l'enquête nationale de santé en milieu scolaire effectuée en 2012-2013 auprès d'environ 20 000 élèves, montrait que 11,0 % des enfants scolarisés en grande section de maternelle avaient déjà eu de l'asthme et 11,8 % avaient eu des sifflements au cours des 12 derniers mois (Delmas et coll., 2017). Au niveau mondial, l'asthme se positionne au 11e rang pour les années de vie avec de l'incapacité (GBD, 2016) et entraîne des coûts sociaux et économiques considérables (Gibson et coll., 2013). La prévalence de l'asthme a augmenté de façon importante au cours de ces dernières décennies, et en particulier entre le début des années 1970 et 1990, avec une prévalence qui a doublé dans certains pays (Upton et coll., 2000). Les données internationales du *Global Burden of Disease* montrent une augmentation de 12,6 % (IC 95 % [9,0-16,4]) de la prévalence de l'asthme sur la période la plus récente, entre 1990-2015, avec de fortes variations géographiques selon un indice sociodémographique : une augmentation de 95 % était estimée dans les pays avec le plus faible indice et inversement une diminution de 13,8 % était observée dans les pays avec le plus fort indice (Soriano et coll., 2017). Cette augmentation résulte principalement de la croissance démographique et du vieillissement de la population mondiale puisque, sur la base des prévalences standardisées sur l'âge, une diminution globale de 17,7 % (IC 95 % [15,1-19,9]) de la prévalence de l'asthme était estimée.

Plus qu'une maladie, l'asthme est un syndrome respiratoire qui se manifeste par des crises de durées et d'intensités variables, pendant lesquelles le patient présente une difficulté à respirer, une respiration sifflante, de la toux, et une sensation d'oppression thoracique. Cette difficulté respiratoire est réversible ; elle disparaît à la fin de la crise, soit spontanément soit sous l'effet d'un traitement. Au centre de la problématique de l'asthme, se trouvent une hyperréactivité et une inflammation bronchique : les bronches des asthmatiques répondent de façon exagérée à divers stimuli, conduisant à une inflammation chronique des bronches avec notamment une réponse anormale des muscles lisses respiratoires conduisant au bronchospasme. Le diamètre des bronches est alors réduit rendant l'expiration difficile (on parle d'obstruction bronchique expiratoire). Les stimuli responsables de l'hyperréactivité

bronchique peuvent être non spécifiques, comme le froid et l'effort physique, ou spécifiques comme les allergènes. Dans les asthmes allergiques, qui représentent plus des deux tiers des asthmes de l'enfant et la moitié chez l'adulte, les bronches réagissent de façon disproportionnée à certains allergènes (de pollens, acariens, chat...). Les asthmes allergiques, caractérisés par la présence d'IgE spécifiques, présentent comme anomalie initiale une réaction immunitaire de type Th2 (production de cytokines IL-4, IL-5 et IL-13 par un sous-type de lymphocytes T « *helper* » ou régulateur) relayée par des boucles de régulation amplificatrices activant d'autres cellules de l'immunité : cellules résidentes (cellules dendritiques et mastocytes) et circulantes (lymphocytes T, polynucléaires éosinophiles, neutrophiles et basophiles). Les asthmes allergiques appartiennent aux « maladies allergiques », qui représentent un spectre de troubles allergiques allant de ceux qui affectent la peau (eczéma atopique), les conjonctives (conjonctivite) à ceux qui affectent les voies respiratoires supérieures (rhinite) et inférieures (asthme). Ces maladies allergiques sont indiscutablement associées (multi-morbidités allergiques). La multi-morbidité dans l'asthme ne se limite pas aux maladies allergiques, en particulier chez l'adulte où elle peut inclure des troubles cardio-métaboliques et de la santé mentale (dépression) par exemple.

L'asthme est une maladie chronique dont les premières manifestations surviennent le plus souvent chez l'enfant (mais pas seulement), et contrairement à la plupart des maladies chroniques qui s'aggravent au cours du temps, l'évolution de l'asthme au long cours est plus difficilement prévisible ; l'asthme peut rester stable, s'aggraver, s'améliorer ou « disparaître » puis réapparaître tout au long de la vie. L'asthme ne se guérit pas, mais pour la plupart des asthmatiques, les symptômes peuvent être contrôlés par une prise en charge adaptée qui repose sur des traitements de fond, des anti-inflammatoires bronchiques, et des traitements de crise, des bronchodilatateurs. Les agents bronchodilatateurs sont des β2-mimétiques de courte (terbutaline) ou de longue durée (salmétérol, formotérol) parfois associés à des anticholinergiques avec un mode d'action complémentaire de celui des β2-mimétiques. Les agents anti-inflammatoires sont des corticoïdes inhalés (béclométhasone, budésonide...) ou systémiques pour traiter les crises et exacerbations ou dans le cas d'asthme sévère non stabilisé, ainsi que des anti-leucotriènes seuls ou en complément des corticoïdes. D'autre part, une action de contrôle de l'environnement est proposée, notamment l'éviction des allergènes auxquels le patient est allergique. Néanmoins, certains patients asthmatiques présentent au cours du temps un déclin progressif, accéléré et irréversible de leur fonction ventilatoire malgré un traitement. Un épaississement progressif de la paroi bronchique dû à un processus de remodelage tissulaire est possible et est à l'origine d'altérations fonctionnelles

respiratoires fixées. Il existe donc des formes d'asthme sévère, présentes chez 10 % des individus asthmatiques, et qui ont des retentissements importants sur la qualité de vie et la morbidité des patients et peuvent mettre en jeu leur pronostic vital.

Dans un contexte épidémiologique, l'approche par questionnaire est un outil privilégié pour identifier les individus asthmatiques. Une revue souligne une large variabilité de la définition de l'asthme dans les études épidémiologiques récentes, qui impacte l'estimation de la prévalence de l'asthme (Sá-Sousa et coll., 2014). Les questions relatives à l'asthme (« avez-vous déjà eu de l'asthme ? ») ou au diagnostic d'asthme par un médecin (« un médecin vous a-t-il déjà dit que vous aviez de l'asthme ? ») montrent une très bonne spécificité (≥ 94 %), associée à une moindre sensibilité (36 %-68 % selon la définition utilisée pour le *gold standard*) (Torén et coll., 1993). En ce qui concerne les symptômes respiratoires, la présence de sifflements dans la poitrine au cours des 12 derniers mois est fortement prédictive de l'asthme (diagnostic clinique ou déclaré), avec une sensibilité ≥ 63 % et une spécificité ≥ 82 %.

L'asthme et les maladies allergiques ont une composante génétique (de nombreux variants génétiques ont été identifiés dans la susceptibilité à la maladie : *CHI3L1*, *DENND1B*, *RAD50-IL13*, *HLA-DQ*, *IL33*, *ORMDL3-GSDMB*, *TSLP*...) mais leur recrudescence rapide dans les pays développés souligne l'impact majeur de l'environnement au sens large. Si le rôle de l'environnement dans le déclenchement des crises est indiscutable, la mise en évidence du rôle de facteurs environnementaux dans l'étiologie de la maladie est plus complexe. Néanmoins, plusieurs types de facteurs environnementaux, protecteurs (vie à la ferme, contact avec des agents infectieux dans la petite enfance...) ou nocifs (tabac, pollution de l'air, certaines expositions professionnelles...) ont été mis en cause dans le développement de l'asthme.

La bronchite chronique et la BPCO

La définition de la bronchite chronique est clinique. Elle définit un sujet qui tousse et expectore (crache) trois mois par an et au cours d'au moins deux années consécutives. Ces symptômes résultent d'une inflammation chronique et diffuse des voies respiratoires. En épidémiologie, la bronchite chronique est définie par questionnaire.

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), qui est définie selon les dernières recommandations internationales par l'existence

concomitante de symptômes respiratoires et d'un trouble ventilatoire obstructif, est une maladie pulmonaire méconnue par le grand public et sous-diagnostiquée, bien qu'elle ne soit pas rare et qu'elle engage le pronostic vital. Selon le *Global Burden of Disease*, la BPCO touche 251 millions de personnes dans le monde et est la troisième cause de mortalité dans le monde (Lozano et coll., 2012 ; GBD, 2017). En France, on estime que la prévalence de la BPCO atteint 5 à 10 % de la population des plus de 45 ans (soit 2,5 à 3,5 millions de personnes) (Fuhrman et Delmas, 2010). Au niveau mondial, la prévalence de la BPCO a augmenté de 44,2 % (IC 95 % [41,7-46,6]) entre 1990 et 2015, une augmentation particulièrement marquée dans les pays avec un indice sociodémographique moyen, alors que la prévalence standardisée selon l'âge a diminué de 14,7 % (IC 95 % [13,5-15,9]) (Soriano et coll., 2017).

La maladie se développe lentement et se manifeste par des signes non spécifiques en général à partir de 40-50 ans : essoufflement (dyspnée), toux chronique, expectoration. La maladie demeure longtemps peu symptomatique : la dyspnée apparaît lorsque la fonction respiratoire est déjà très altérée. Les patients atteints de BPCO présentent des exacerbations, période d'aggravation aiguë des symptômes, responsables de l'altération de la qualité de vie voire de l'hospitalisation ou encore du décès. Selon les données récentes françaises (2014-2015), la BPCO était mentionnée comme cause de décès pour plus de 18 000 décès par an, et le nombre de jours d'hospitalisation pour exacerbation de BPCO se situait entre 100 000 et 150 000 selon l'indicateur utilisé[62]. Au-delà du retentissement sur les individus, la BPCO représente un coût important pour la société : le plan BPCO 2005-2010 du ministère de la Santé l'estimait à 3,5 milliards d'euros par an, soit 3,5 % de l'ensemble des dépenses de santé. À ces dépenses de santé, s'ajoutent les coûts indirects liés à la baisse de productivité des sujets encore en activité. La BPCO est souvent associée à d'autres maladies chroniques (maladies cardio-vasculaires, maladies métaboliques...).

La BPCO est caractérisée par une inflammation neutrophilique avec activation directe des cellules épithéliales et des macrophages alvéolaires, associée à un rétrécissement progressif et une obstruction permanente des voies aériennes. Les alvéoles pulmonaires, qui permettent les échanges gazeux lors de la respiration, sont progressivement détruites (emphysème). La BPCO ne se guérit pas, mais sa prise en charge permet de ralentir son évolution et de limiter certains symptômes.

62. Santé publique France. Broncho-pneumopathie chronique obstructive et insuffisance respiratoire chronique. [Internet] https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/bpco-et-insuffisance-respiratoire-chronique/donnees/#tabs (consulté le 10/02/2021).

Dans un contexte épidémiologique, la BPCO définie par l'auto-déclaration d'un diagnostic de BPCO (incluant ou non un diagnostic d'emphysème et/ou de bronchite chronique) a une faible sensibilité (0,11-0,13) en raison de l'importance du sous-diagnostic, et une spécificité très élevée (> 0,95) (Torén et coll., 2017). Le diagnostic de BPCO auto-déclaré est donc peu approprié pour définir la prévalence de la maladie, mais cette définition reste opérationnelle dans le contexte d'études étiologiques dans lesquelles il est préférable de disposer de définition de la maladie avec une grande spécificité. Quand les données de spirométrie avec test de réversibilité (post bronchodilatation) sont disponibles, la définition de la BPCO repose sur un ratio fixe VEMS/CVF post-BD < 0,7 ou, pour éviter un sur-diagnostic de la BPCO chez les plus âgés, par un ratio < limite inférieure à la normale – définie selon l'âge, la taille et le sexe du sujet.

Le tabac est le principal facteur de risque de la BPCO puisque 80 % des cas sont attribuables au tabagisme actif ou passif. Néanmoins d'autres facteurs environnementaux ont été identifiés tels que la pollution de l'air, les expositions professionnelles à certaines substances chimiques (poussière de charbon, silice, expositions aux poussières organiques...) ou sont suspectés, tels que l'exposition aux pesticides. Il existe aussi une composante génétique dans le développement de la BPCO. À travers les études pangénomiques (*Genome-Wide Association Studies*), plus de 20 loci génétiques ont été associés de façon convaincante avec le risque de BPCO ; par exemple des gènes impliqués dans les mécanismes de réparation (*FAM13A*, *HHIP*), ou la régulation de l'inflammation (*AGER*) (Ragland et coll., 2019).

Données épidémiologiques

L'association entre l'exposition aux pesticides et l'asthme, la BPCO ou des paramètres de fonction respiratoire a été étudiée en milieu professionnel, et dans une moindre mesure en population générale.

Exposition professionnelle

L'impact de la vie à la ferme sur la santé respiratoire, et en particulier l'asthme, peut paraître controversé. D'une part, l'environnement de la ferme est source d'exposition à divers facteurs environnementaux, tels que poussières, moisissures, animaux, agents infectieux, pesticides et autres produits chimiques, qui ont été identifiés ou sont suspectés de favoriser les symptômes respiratoires et/ou le développement de maladies respiratoires (*American Thoracic Society*, 1998). D'autre part, des observations épidémiologiques

montrent que l'exposition précoce à un environnement fermier est un facteur protecteur, et en particulier vis-à-vis du développement de l'asthme allergique (Braun-Fahrländer et coll., 1999 ; von Mutius, 2007). Une méta-analyse suggère une forte hétérogénéité de cet effet protecteur selon les études (Genuneit, 2012). Cette hétérogénéité pourrait résulter de différents types d'environnement fermier, comme le suggèrent les résultats d'analyses dans la cohorte AGRICAN, avec une tendance à un effet protecteur pour les fermes avec bétail, mais au contraire une tendance délétère lors de la culture de la vigne, de fruits et de légumes (Baldi et coll., 2014). Selon la théorie hygiéniste, cet effet protecteur résulterait de l'exposition précoce aux infections et aux composantes microbiennes qui permettrait une maturation du système immunitaire et préviendrait ainsi le développement de maladies allergiques. L'impact de l'exposition précoce de la vie à la ferme est rarement pris en compte dans les études sur l'exposition professionnelle aux pesticides en milieu agricole sur la santé respiratoire.

Une revue de la littérature publiée en 2015 a rassemblé 41 études publiées jusqu'en décembre 2013 portant sur le rôle possible des expositions professionnelles aux pesticides sur les symptômes et maladies respiratoires (asthme, BPCO, bronchite chronique) (Mamane et coll., 2015a). Dans la majorité de ces études épidémiologiques, on observe des associations statistiquement significatives entre l'exposition professionnelle aux pesticides et un risque augmenté de symptômes ou maladies respiratoires, mais avec une forte hétérogénéité tant au niveau de l'évaluation de l'exposition que de la définition de l'évènement de santé. Cette revue conclut que l'exposition professionnelle aux pesticides présente un risque pour la santé respiratoire mais souligne la nécessité d'études supplémentaires, notamment des études de cohortes avec une caractérisation approfondie des expositions afin de documenter les relations dose-réponse et les expositions spécifiques aux pesticides et avec des mesures objectives de la santé respiratoire, en particulier des mesures de spirométrie pour évaluer l'obstruction bronchique. Une autre revue de la littérature publiée en 2014 ciblait l'impact de l'exposition aux pesticides, professionnelle ou environnementale, sur le développement des maladies obstructives chroniques (asthme, BPCO) et des sifflements respiratoires (Doust et coll., 2014). Parmi 42 études initialement identifiées, 23 études qui concernaient principalement les expositions professionnelles était retenues selon certains critères de qualité (définis par *The Scottish Intercollegiate Guidelines Network*, SIGN)[63]. Les auteurs concluaient à un impact possible de l'exposition aux pesticides sur l'asthme et les sifflements et bien que quelques études aient indiqué des associations avec la bronchite ou la BPCO, le niveau de preuve était considéré plus faible pour la BPCO que pour l'asthme.

63. https://www.sign.ac.uk/our-guidelines [consulté le 9 avril 2020].

Depuis la publication de ces revues de la littérature, 28 articles portant sur l'association entre l'exposition aux pesticides en milieu professionnel et la santé respiratoire sont parus dans la littérature (tableau 16.I, voir en fin de ce chapitre) : 14 études basées sur des cohortes prospectives (principalement d'Europe et d'Amérique du Nord), 7 études de type exposés-non exposés (principalement d'Asie, d'Afrique ou du Moyen-Orient), 7 études transversales (principalement d'Afrique et d'Amérique du Sud) et une méta-analyse. Les principaux résultats de ces articles récents sont présentés ci-dessous (pour les articles publiés avant 2013, se référer aux revues antérieures, Mamane et coll., 2015a).

Méta-analyse

Une revue systématique de la littérature sur l'impact de l'exposition professionnelle aux pesticides sur le risque de BPCO (défini par les données de spirométrie) ou de bronchite chronique (défini par questionnaire) suivie d'une méta-analyse a été publiée (Pourhassan et coll., 2019). La méta-analyse basée sur 9 cohortes, représentant plus de 100 000 participants (entre 300 et 50 000 participants par cohorte) conclut à un impact significatif de l'exposition aux pesticides sur le risque de BPCO ou de bronchite chronique (OR = 1,33 ; IC 95 % [1,21-1,47]), les OR associés à la BPCO seule et la bronchite chronique seule étaient 1,44 [1,14-1,81]) et 1,27 [1,23-1,31], respectivement (figure 16.2). L'étude n'indiquait pas de biais de publication (selon le graphique en entonnoir et la valeur p du test de Egger = 0,16).

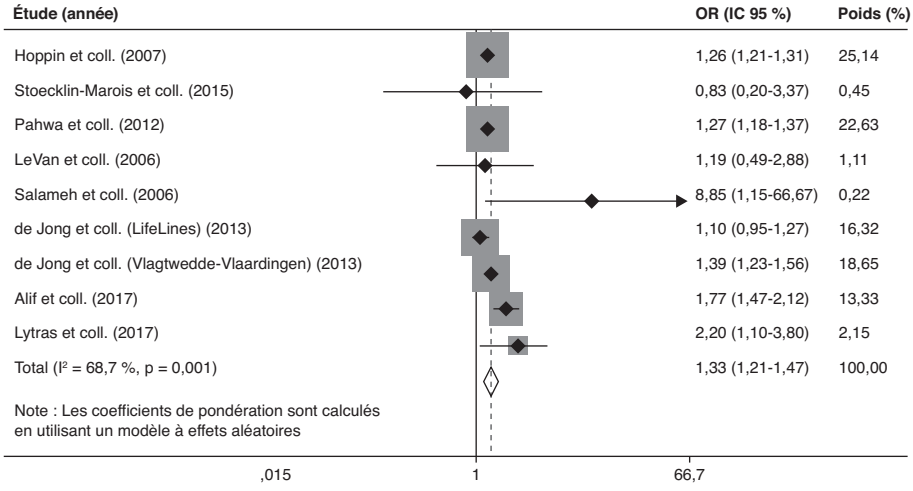


Figure 16.2 : Associations entre l'exposition professionnelle aux pesticides et le risque de BPCO ou bronchite chronique : résultat d'une méta-analyse (d'après Pourhassan et coll., 2019)
(Figure traduite de l'anglais)

Études de cohortes

Parmi les 14 études récentes conduites au sein de cohortes, on en distingue 6 menées en population générale et 8 en population agricole.

Les 6 études qui reposent sur des cohortes en population générale ont principalement été conduites en Europe et ont évalué l'exposition chronique aux pesticides de façon non spécifique par une matrice emploi-exposition, principalement la matrice *ALOHA plus* qui permet une estimation semi-quantitative (pas d'exposition, faible niveau d'exposition et haut niveau d'exposition) à de grandes catégories de nuisances potentiellement à risque pour la santé respiratoire, y compris les pesticides en distinguant 2 sous-catégories, les herbicides et les insecticides. Ces études, qui portaient sur différents paramètres de santé (niveau ou déclin de la fonction respiratoire, obstruction bronchique, prévalence ou incidence de symptômes respiratoires, incidence de BPCO) et ajustaient sur plusieurs facteurs d'ajustement incluant le tabagisme, ont toutes rapporté des associations statistiquement significatives dans le sens d'un effet délétère de l'exposition aux pesticides. Sur plus de 2 500 adultes suivis sur une période de 25 ans (soit plus de 12 000 observations), de Jong et coll. ont mis en évidence un déclin accéléré du VEMS (- 5 ml/an [- 8,0 ; - 2,1]) et du rapport VEMS/CVF (- 0,09 %/an [- 0,15 ; - 0,03]) avec une exposition élevée aux pesticides (nombre de sujets exposés = 298). Ces analyses ont été ajustées sur différents facteurs de confusion incluant la consommation de tabac (paquets-années), le niveau de fonction respiratoire à l'entrée dans l'étude et les expositions professionnelles aux poussières/gaz/fumée (De Jong et coll., 2014a). Les auteurs montraient que cette association était particulièrement observée chez les fumeurs. Dans une cohorte prospective hollandaise de presque 12 000 participants, l'exposition forte aux herbicides et aux insecticides était associée à un niveau de VEMS abaissé (- 204 ml [- 350 ; - 58] et - 109 ml [- 197 ; - 21], respectivement) (De Jong et coll., 2014c). De plus, une exposition forte aux herbicides était associée à un rapport VEMS/CVF diminué et à l'obstruction bronchique définie par VEMS/CVF < 0,7, et d'autant plus lorsque l'obstruction bronchique était modérée à sévère (définie par VEMS < 80 % prédit, OR = 3,6 [1,3 ; 9,9]). De façon intéressante, l'association entre l'exposition aux herbicides et l'obstruction bronchique modérée à sévère était retrouvée dans une seconde cohorte, bien que de plus faible amplitude (OR = 1,7 [1,0-2,7]). Sur la base des données de 237 sujets recrutés entre 10-15 ans en 1964 dans la cohorte WHEASE (Royaume-Uni) et suivis pendant 50 ans, l'exposition aux biocides et fongicides était associée à une fonction ventilatoire altérée (niveau du VEMS diminué et déclin du VEMS accéléré) et aux sifflements qui ont débuté à l'âge adulte (Tagiyeva et coll., 2016). L'étude mettait en évidence

des relations dose-réponse avec l'intensité de l'exposition évaluée à partir du niveau et de la durée de l'exposition. Le suivi sur près de 40 ans de 1 335 enfants recrutés en 1968 dans la cohorte australienne TAHS montre que l'exposition aux pesticides était associée à un risque augmenté d'obstruction chronique statistiquement significatif (définie dans cette étude par le VEMS/CVF post-BD < 0,7), à la bronchite chronique et à la dyspnée avec des RR estimés entre 1,7 et 1,9 selon l'évènement de santé. Des associations du même ordre de grandeur étaient observées avec l'exposition aux herbicides et aux insecticides séparément, et des associations significatives étaient observées en considérant l'exposition cumulée sur l'ensemble de l'histoire professionnelle (Alif et coll., 2017). Plus récemment, deux analyses longitudinales basées sur la cohorte européenne ECRHS, l'une ciblant l'incidence de la BPCO (Lytras et coll., 2018) et l'autre l'incidence de la bronchite chronique (Lytras et coll., 2019) ont été publiées. L'incidence de la BPCO (n = 96, définie par le rapport VEMS/CVF post-BD < limite inférieure de la normale, parmi 3 343 adultes suivis pendant 20 ans), était significativement augmentée avec l'exposition aux pesticides (RR = 2,2 [1,1-3,8]) et aux insecticides (RR = 2,3 [1,1-4,2]) ; des associations du même ordre de grandeur mais non statistiquement significatives était observées avec l'exposition aux herbicides et aux fongicides. L'incidence de la bronchite chronique dans cette cohorte n'était pas associée à l'exposition aux pesticides, ni aux différentes sous-catégories herbicides, insecticides et fongicides dans l'ensemble de la population, mais l'analyse conduite séparément chez les hommes et les femmes identifiait des associations positives et significatives chez les femmes avec des RR de l'ordre de 2 pour l'exposition aux insecticides et fongicides.

Les 8 études qui portent sur des cohortes d'agriculteurs, reposent principalement sur 3 cohortes : la cohorte *Agricultural Health Study* (AHS) aux États-Unis, une cohorte de céréaliers de l'Alberta et la cohorte française AGRICAN. Pour 6 de ces 8 études, les analyses ont été conduites de façon transversale, ne prenant pas en compte la dimension longitudinale de l'impact des pesticides sur la santé respiratoire, ce qui limite l'interprétation des associations mises en évidence. Sur un échantillon aléatoire (10 %) de la cohorte AGRICAN, représentant plus de 14 000 hommes et femmes travaillant en agriculture, la prévalence de la bronchite chronique était augmentée (OR = 1,3 [1,1-1,6]) avec la culture de pommes de terre (une culture particulièrement consommatrice de fongicides) avec une relation dose-réponse en considérant la durée et la taille de l'exploitation (Tual et coll., 2013). Dans cette étude, parmi les producteurs de pommes de terre, l'utilisation de pesticides était significativement associée à un risque augmenté de bronchite chronique. Une étude récente dans la cohorte AHS a mis en évidence un risque augmenté des symptômes de bronchite chronique (avec

ou sans diagnostic de BPCO associé) avec l'utilisation d'insecticides sur la dernière année et avec 9 des 18 insecticides étudiés (diazinon, malathion, coumaphos, dichlorvos, carbaryl, pyréthrine, perméthrine, lindane, parathion) (Rinsky et coll., 2019). En revanche, une autre étude américaine portant sur 702 agriculteurs et agricultrices n'observait pas d'association statistiquement significative entre l'utilisation de pesticides au cours des 12 derniers mois et la bronchite chronique, ni avec l'asthme et les sifflements persistants, et les OR étaient < 1 (Stoecklin-Marois et coll., 2015).

La cohorte AGRICAN montrait une augmentation du risque d'asthme allergique (l'allergie étant définie par le rhume des foins ou l'eczéma) chez les utilisateurs de pesticides sur vignes (OR = 1,3 ; IC 95 % [1,0-1,8]), prairies (OR = 1,3 ; IC 95 % [1,0-1,8]), et vergers (OR = 1,6 ; IC 95 % [1,0-2,4]), des cultures dans lesquelles les pesticides, et en particulier les fongicides, sont largement utilisés, et chez les personnes rapportant une intoxication aiguë par un pesticide (OR = 2,0 ; IC 95 % [1,4-2,7]) (Baldi et coll., 2014). Ces observations sont en accord avec les résultats plus anciens de la cohorte AHS, qui indiquaient que l'utilisation de pesticides était plus fortement associée avec l'asthme allergique comparativement à l'asthme non allergique (Hoppin et coll., 2008 ; Hoppin et coll., 2009). De plus, une analyse récente sur la cohorte AHS a mis en évidence des associations significatives entre 19 pesticides (parmi 78) et les sifflements allergiques, et entre 21 pesticides et les sifflements non allergiques, avec des risques souvent plus forts pour les sifflements allergiques (Hoppin et coll., 2017) (tableau 16.II, voir en fin de ce chapitre). Dans une autre cohorte de 2 426 céréaliers de l'Alberta, le diagnostic d'asthme rapporté par auto-questionnaire était augmenté avec le nombre d'années d'utilisation de composés phénoxy (OR = 1,3 [0,7-2,5], 2,5 [1,2-5,1], et 3,2 [1,5-6,6] pour une exposition courte, moyenne et longue respectivement), et l'étude ne mettait pas en évidence d'association avec les autres familles de pesticides étudiées (organochlorés, organophosphorés, pyréthrinoïdes, carbamates, thiocarbamates et dithiocarbamates) (Cherry et coll., 2018). Cette association était retrouvée avec un autre phénotype d'asthme qui s'appuyait sur les symptômes respiratoires et les données médico-administratives, mais contrairement aux observations des études précédentes, dans cette étude l'association était plus forte avec l'asthme non allergique.

Deux études basées sur des effectifs limités (< 100 personnes) portaient sur les effets à court/moyen terme des pesticides sur la santé respiratoire en comparant des paramètres de la santé respiratoire mesurés à 2 points dans le temps, correspondant à des usages différents des pesticides. Une étude brésilienne a procédé à une comparaison de la santé respiratoire pendant et hors saison des récoltes chez 82 familles d'agriculteurs. Cette étude n'a pas montré de

différence sur les valeurs spirométriques entre ces 2 périodes, mais pendant la saison des récoltes des symptômes respiratoires nocturnes étaient plus souvent rapportés et l'activité des cholinestérases (mesurées par le dosage des AChE et BChE qui diminuent avec l'exposition aux pesticides organophosphorés) était diminuée avec certains indicateurs d'exposition aiguë et chronique (Buralli et coll., 2018). Une étude thaïlandaise ayant suivi ce type d'approche en comparant les données de fonction respiratoire à 2 mois d'intervalle chez 58 hommes, avant et après la saison de pulvérisation de pesticides, a observé une diminution statistiquement significative du VEMS, de la CVF et du débit de pointe sur la période de suivi (Sapbamrer et coll., 2019).

En résumé, les études de cohortes récentes, à la fois en population générale et en milieu agricole, apportent des résultats supplémentaires pour suggérer que l'exposition professionnelle chronique aux pesticides présente un risque pour la santé respiratoire. Plus spécifiquement, des études en population générale qui ont intégré une dimension longitudinale, avec l'étude de l'impact des pesticides sur l'incidence de symptômes ou maladies respiratoires et l'étude du déclin de la fonction respiratoire, et des études chez des agriculteurs qui ont ciblé des pesticides spécifiques avec en particulier la cohorte AHS ont permis de renforcer l'hypothèse du rôle des pesticides sur la santé respiratoire. Une méta-analyse publiée en 2019 conclut à un risque significativement augmenté de BPCO/bronchite chronique avec l'exposition professionnelle aux pesticides.

Études exposés-non exposés et études transversales

Sept études récentes comparant des personnes exposées de manière chronique *via* leur profession (agriculteurs, ouvriers agricoles, détaillants de pesticides) à des personnes non exposées ont été conduites sur des échantillons souvent de taille limitée (seules 3 études incluaient plus de 200 personnes exposées) principalement en Afrique, au Moyen-Orient et en Asie. Ces études portaient sur les symptômes respiratoires rapportés par questionnaires, des paramètres spirométriques ou la mesure du FeNO (fraction expirée du monoxyde d'azote, reflétant l'inflammation bronchique). L'exposition était déterminée soit par une comparaison des groupes exposés/non exposés ou selon les différents postes chez les ouvriers agricoles, soit par des dosages biologiques (dosage des cholinestérases dans le sang, des métabolites urinaires du chlorpyrifos, des dialkylphosphates et des pyréthrinoïdes). La plupart des études ont conclu à une altération de la santé respiratoire associée à l'exposition aux pesticides (Fareed et coll., 2013 ; Callahan et coll., 2014 ; Ndlovu et coll., 2014 ; Hanssen et coll., 2015 ; Negatu et coll., 2017 ; Jalilian et coll., 2018) et une étude n'identifiait pas de différences (Mwanga et coll., 2016).

Sept études transversales récentes conduites exclusivement chez des agriculteurs ou des personnes travaillant dans des serres ont évalué l'impact de l'utilisation de pesticides, estimée par questionnaires ou par des dosages biologiques (dosages urinaires de métabolites des pesticides organochlorés, des pyréthrinoïdes et du paraquat), sur la prévalence de symptômes respiratoires, d'asthme ou sur des paramètres spirométriques. Trois de ces études incluaient entre 200 et 300 personnes, tandis que les autres incluaient plus de 1 000 personnes. Quatre des cinq études qui reposaient exclusivement sur une estimation de l'exposition aux pesticides ont conclu à un effet sur la santé respiratoire, et plus particulièrement sur les symptômes respiratoires (toux chronique, expectoration chronique, essoufflement, sifflements) (Desalu et coll., 2014 ; Fiori et coll., 2015 ; Negatu et coll., 2017), la prévalence de l'asthme (Liu et coll., 2019), et une fonction ventilatoire abaissée (Negatu et coll., 2017). L'étude de Patel et coll. portant sur plus de 11 000 exploitants agricoles a montré un risque d'asthme actif augmenté avec l'utilisation de pesticides, d'herbicides et d'insecticides mais aucune association n'était retrouvée avec des matières actives spécifiques, à l'exception d'une association proche du seuil de la signification pour le glyphosate (OR = 1,3 [0,97-1,8]) (Patel et coll., 2018). Dans une étude portant sur 300 maraîchers au Ghana, le risque de symptômes respiratoires était augmenté avec le nombre d'heures par jour d'utilisation de fumigants, d'insecticides et de fongicides et avec les dosages urinaires de métabolites de pesticides organochlorés (β-HCH, heptachlore et endosulfan sulfate) et l'étude n'identifiait pas d'association avec les dosages urinaires des métabolites des pyréthrinoïdes (Quansah et coll., 2016). Dans une étude récente sur 217 agriculteurs de Colombie qui ciblait principalement l'exposition au paraquat, l'obstruction bronchique (VEMS/CVF < 0,8) était associée à l'exposition combinée paraquat-méthamidophos et la prévalence de l'asthme était associée à l'exposition chronique au paraquat (évaluée par les niveaux urinaires et le nombre de mois d'exposition) (Diaz-Criollo et coll., 2019). Dans cette étude, aucune association n'était observée avec la dyspnée. Enfin, dans une étude en Chine sur 1 366 individus qui travaillaient dans des serres, les pathologies et symptômes respiratoires n'étaient pas associés à l'utilisation de pesticides sauf peut-être avec l'utilisation mixte de spray (manuelle et machine) mais l'association rapportée reposait sur peu de sujets exposés (n = 24) (Li et coll., 2019).

En résumé, les résultats des études récentes de type exposés/non exposés et transversales convergent avec les résultats des études de cohortes pour indiquer un lien entre l'exposition chronique professionnelle aux pesticides et la santé respiratoire. Étonnamment, à notre connaissance une seule étude a évalué l'impact d'une exposition professionnelle aiguë ou chronique aux pesticides sur le déclenchement d'exacerbations chez des personnes avec de

l'asthme (Henneberger et coll., 2014) et aucune étude chez des patients avec une BPCO. L'étude transversale sur 926 agriculteurs avec un asthme actif dans la cohorte AHS (Henneberger et coll., 2014) identifiait une association inverse avec l'utilisation de 2 herbicides (glyphosate, OR = 0,5 [0,3-0,8] et paraquat, OR = 0,3 [0,1-0,9]) suggérant un possible biais du travailleur en bonne santé (les asthmatiques sujets à des exacerbations pourraient éviter les expositions qui déclenchent les symptômes). Dans cette étude, l'analyse stratifiée sur l'allergie, identifiait une association positive cette fois avec un herbicide (pendiméthaline, OR = 2,1 [1,1-4,1]) et un insecticide (aldicarbe, OR = 10,2 [1,9-55]) parmi les individus allergiques mais elle était menée sur un petit échantillon. Les données de la littérature ne permettent donc pas de conclure sur l'impact d'une exposition professionnelle aux pesticides sur le risque d'exacerbation ou d'aggravation de l'asthme ou de la BPCO.

Exposition environnementale

Une revue de la littérature parue en 2015 a rassemblé 20 études publiées jusqu'en décembre 2013 portant sur le rôle possible des expositions environnementales aux pesticides sur les symptômes et maladies respiratoires (asthme, BPCO, bronchite chronique), 14 conduites chez des enfants et 6 chez des adultes (Mamane et coll., 2015b). Parmi les 14 études chez les enfants, qui reposent principalement sur des cohortes mères-enfants ou des cohortes d'enfants, trois n'ont pas mis en évidence d'association entre l'exposition pré- ou post-natale aux pesticides et la santé respiratoire de l'enfant. Cinq des huit études qui reposaient sur des dosages biologiques pour évaluer l'exposition ont mis en évidence des associations entre l'exposition au DDE, plus particulièrement l'exposition prénatale au DDE, et la prévalence de l'asthme ou des sifflements et une étude identifiait une association entre la perméthrine (un pyréthrinoïde) dans l'air intérieur pendant la grossesse et les sifflements de l'enfant. La plupart des études (quatre sur six) qui n'ont pas mesuré les pesticides pour évaluer l'exposition ont mis en évidence des associations significatives avec la prévalence de l'asthme ou des sifflements chez les enfants. Les six études chez les adultes reposaient sur des schémas d'étude différents (étude rétrospective suite à un programme d'éradication de moustiques, étude exposés/non exposés, étude transversale, étude de cohorte) et la moitié des études n'identifiaient pas d'association significative. Les auteurs de cette revue concluaient à la nécessité d'études supplémentaires pour évaluer le rôle de l'exposition environnementale aux pesticides sur la santé respiratoire des enfants et des adultes.

Depuis la publication de cette revue, 14 articles ont étudié l'association entre l'exposition environnementale aux pesticides et la santé respiratoire (tableau 16.III, voir en fin de ce chapitre) : 12 études basées sur des cohortes prospectives (principalement en Europe ou aux États-Unis), une étude cas-témoins (Chine), et une étude transversale (Canada). La plupart des études portaient sur des populations d'enfants et l'exposition était évaluée par des biomarqueurs dans 9 études : pesticides organochlorés (DDE, DDT, DDD, 3 HCH, heptachlore) dans le sang du cordon (Gascon et coll., 2014) ou le sérum (Perla et coll., 2015 ; Hansen et coll., 2016 ; Meng et coll., 2016 ; Balte et coll., 2017 ; Abellan et coll., 2019), métabolites urinaires des dialkylphosphates (DAP) (Perla et coll., 2015 ; Raanan et coll., 2015 ; Raanan et coll., 2016), ou dosages urinaires reflétant l'exposition aux fongicides dithiocarbamates (éthylène thiourée) (Raherison et coll., 2019), par l'utilisation de système d'information géographique dans deux études (Raanan et coll., 2017 ; Gunier et coll., 2018), et par la concentration de 56 pesticides dans l'air ambiant dans une étude (Raherison et coll., 2019). Les principaux résultats de ces articles récents sont présentés ci-dessous (pour les articles publiés avant 2013, se référer à la revue précédemment publiée de Mamane et coll., 2015b).

Au sujet des pesticides organochlorés, une méta-analyse conduite à partir des données de 10 cohortes de naissance (programme ENRIECO), regroupant au total 4 608 couples mères-enfants, identifiait une association à la limite du seuil de la signification entre l'exposition prénatale au DDE et la prévalence de bronchite et ou de sifflements à 18 mois (RR = 1,03 [1,00-1,07] pour un doublement de l'exposition), et une relation dose-réponse était observée (Gascon et coll., 2014). Mais l'étude ne mettait pas en évidence d'association avec les sifflements, au cours de la vie, rapportés aux 4 ans de l'enfant. Une étude récente sur 2 308 paires mères-enfants dans la cohorte INMA suggère qu'une concentration augmentée de p,p'-DDE chez la mère pendant la grossesse est associée à un VEMS et une CVF abaissés à 4 et 7 ans, mais l'étude ne mettait pas en évidence de relation dose-réponse et à 7 ans, les associations étaient particulièrement observées pour les niveaux d'exposition médians (Abellan et coll., 2019). Les résultats de 3 autres études récentes qui ont évalué l'exposition post-natale au DDE sont soit négatifs soit positifs mais nécessitent d'être interprétés avec prudence du fait de la qualité des études. La cohorte NHANES sur 940 enfants âgés d'au moins 12 ans ne mettait pas en évidence d'association statistiquement significative avec l'asthme ou les sifflements, bien qu'une tendance ait été observée avec les sifflements (Perla et coll., 2015). Une cohorte allemande sur 344 enfants vus entre 1 et 3 fois à 8 ans, 9 ans et 10 ans (971 observations), n'observait pas d'association dans l'analyse transversale, et les analyses prenant en

compte le caractère longitudinal de l'étude n'indiquaient pas d'effet direct de l'exposition sur la fonction respiratoire (Balte et coll., 2017). Une étude sur 620 cas asthmatiques et 218 témoins, pour lesquels les biomarqueurs ont été mesurés sur des pools de 5 cas et de 2 témoins afin de minimiser les coûts de dosages, indiquait une association positive avec le p,p'-DDE. Cette étude montrait aussi une association positive avec α-hexachlorocyclohexane, mais pas d'association avec l'heptachlore (Meng et coll., 2016). Chez l'adulte, une étude transversale canadienne sur 1 696 individus a observé une association statistiquement significative entre p,p'-DDT et p,p'-DDE et un VEMS ou une CVF diminué (Ye et coll., 2017).

Pour ce qui est des organophosphorés, les cohortes américaines CHAMACOS et NHANES ont évalué l'association entre les principaux métabolites urinaires des DAP et la santé respiratoire des enfants. L'étude sur 2 777 enfants de 6 ans et plus suivis dans la cohorte NHANES n'a pas mis en évidence d'association entre la somme de la concentration de 6 métabolites des DAP (diméthylphosphate (DMP), diéthylphosphate (DEP), diméthylthiophosphate (DMTP), diéthylthiophosphate (DETP), diméthyldithiophosphate (DMDTP), diéthyldithiophosphate (DEDTP)) et l'asthme ou les sifflements (Perla et coll., 2015). L'absence d'association statistique peut résulter de l'absence d'effet de ces expositions, mais possiblement aussi d'une faible puissance statistique de l'étude compte tenu de l'erreur de mesure sur l'exposition associée à la demi-vie courte de ces métabolites. Dans ce contexte, un seul dosage urinaire est insuffisant pour refléter précisément l'exposition chronique. Dans la cohorte CHAMACOS, les six métabolites urinaires des DAP ont été mesurés 2 fois pendant la grossesse (à 13 puis 26 semaines de gestation en moyenne) puis 5 fois chez l'enfant entre 6 mois et 5 ans pour 359 couples mères-enfants. La présence de symptômes respiratoires ou d'un traitement pour l'asthme sur les 12 derniers mois, déclarée à 5 ou 7 ans, était non significativement augmentée avec une concentration plus élevée des DAP et plus spécifiquement des DE pendant la grossesse, et l'association était significative en considérant uniquement les dosages effectués pendant la seconde moitié de grossesse (OR = 1,77 [1,06-2,95] pour une augmentation d'un facteur 10 de la concentration des métabolites DAP) (Raanan et coll., 2015). Pour ce même phénotype et pour la toux induite par l'exercice, des associations de forte magnitude étaient observées avec l'exposition post-natale (OR = 2,53 [1,32-4,86] et 5,40 [2,10-19,91] respectivement, pour une augmentation d'un facteur 10 de la concentration des métabolites DAP). Une autre étude qui portait sur les données spirométriques disponibles pour 279 enfants à 7 ans n'identifiait pas d'association avec les concentrations prénatales aux métabolites de DAP, mais montrait qu'une concentration post-natale aux métabolites des DAP était significativement associée à un VEMS et une CVF significativement diminués (Raanan et coll., 2016).

En parallèle de ces dosages urinaires pour évaluer l'exposition aux pesticides, la cohorte NHANES dispose d'estimations géographiques de l'utilisation de pesticides spécifiques à proximité du domicile des enfants grâce aux données du *California Pesticide Use Report*. Une première étude centrée sur l'impact potentiel du soufre élémentaire utilisé en agriculture montrait qu'une augmentation de la quantité de soufre élémentaire utilisée dans les 12 derniers mois dans un rayon de 1 km autour du domicile de l'enfant était associée à la présence de symptômes respiratoires, à l'utilisation de traitement pour l'asthme et à une fonction ventilatoire abaissée (VEMS, CVF et DEM_{25-75}) à 7 ans (Raanan et coll., 2017). Une seconde étude ciblait l'utilisation agricole de bromure de méthyle, chloropicrine, métham sodium et 1,3-dichloropropène par fumigation autour du domicile des enfants et explorait différentes fenêtres d'exposition (grossesse, 0-7 ans, 12 derniers mois). Dans cette étude, aucune association n'était observée avec les symptômes respiratoires à 7 ans, et inversement à l'hypothèse testée, l'exposition prénatale au bromure de méthyle et à la chloropicrine était associée à un VEMS et un DEM_{25-75} augmenté (Gunier et coll., 2018).

Une étude française en milieu viticole ne mettait pas en évidence d'association entre un index d'exposition cumulatif calculé à partir des mesures dans l'air de 56 pesticides et différents paramètres de santé respiratoire (diagnostic d'asthme, symptômes d'asthme, score de symptômes d'asthme plus rhinite, débit de pointe et VEMS) recueillis à l'issue de deux semaines de mesures chez 282 enfants âgés de 3 à 10 ans (Raherison et coll., 2019). En revanche une concentration urinaire d'éthylène thiourée (biomarqueur d'une exposition au fongicide dithiocarbamates) augmentée était associée à un score de symptômes d'asthme et rhinite plus élevé.

Une étude sur une population d'adultes a été conduite sur 559 habitants de Séoul qui ont eu jusqu'à 3 visites à environ 1 an d'intervalle, au cours desquelles une spirométrie et les dosages urinaires d'un métabolite des pyréthrinoïdes (3-BPA) ont été réalisés (Kim et coll., 2019). Après ajustement sur plusieurs facteurs de confusion potentiels, des associations transversales significatives étaient observées avec un niveau abaissé du VEMS, de la CVF et du DEM_{25-75}, mais l'analyse longitudinale ne mettait pas en évidence d'association avec l'évolution de la fonction respiratoire.

Seules 2 études ont tenté d'évaluer l'impact de l'exposition aux pesticides sur des caractéristiques de l'asthme au sein d'une population d'asthmatiques. Une étude sur 620 cas asthmatiques, pour lesquels les biomarqueurs d'exposition aux pesticides organochlorés ont été mesurés sur des « pools » d'échantillons de sang de 5 cas afin de minimiser les coûts de dosages, ne montrait pas d'association avec la sévérité de l'asthme (définie par 10 crises d'asthme

ou plus au cours de la dernière année ou un antécédent de crise d'asthme aiguë) (Meng et coll., 2016). Une seconde étude sur 16 enfants asthmatiques suivis à intervalle régulier de 6 jours pendant 4 mois identifiait une association positive entre des métabolites urinaires des dialkylphosphates et le dosage urinaire des leucotriènes E4, un marqueur d'inflammation bronchique, mais l'étude n'incluait pas d'information sur les symptômes respiratoires ou la fonction ventilatoire (Benka-Coker et coll., 2019).

En résumé, les études récentes sur l'impact de l'exposition environnementale aux pesticides sur la santé respiratoire apportent des éléments suggérant un rôle de ce facteur environnemental sur les sifflements et l'asthme chez les enfants, mais les données chez l'adulte restent particulièrement limitées. Les données de la littérature ne permettent pas de conclure sur le rôle de l'exposition environnementale aux pesticides sur des caractéristiques de la maladie (fréquence des exacerbations ou crises, évolution, sévérité) chez les personnes atteintes d'asthme ou de BPCO.

La synthèse de l'ensemble des résultats est présentée dans le tableau 16.IV (voir en fin de ce chapitre) pour les expositions aux pesticides sans distinction des substances actives. Il reste difficile d'identifier précisément les substances associées à une altération de la santé respiratoire. Cependant, principalement sur la base de l'ensemble des résultats sur la santé respiratoire de l'AHS, la plus large étude à avoir évalué les expositions spécifiques sur différents paramètres de la santé respiratoire (tableau 16.II, voir en fin de ce chapitre), une liste de 17 produits qui présentent un lien possible avec des symptômes respiratoires, la fonction ventilatoire, l'asthme ou la BPCO ont été retenus, dont 11 insecticides et 6 herbicides (tableau 16.V, voir en fin de ce chapitre).

Données toxicologiques

Afin de mieux cerner l'implication potentielle des 17 pesticides évoqués d'après la synthèse des données épidémiologiques (tableau 16.V, voir en fin de ce chapitre), une recherche a été conduite sur les mécanismes pouvant contribuer au développement des pathologies respiratoires induites par ces substances actives. La plupart sont aujourd'hui interdites d'utilisation en France (14/17) mais une majorité d'entre elles sont persistantes dans l'environnement ; 3 pesticides sont actuellement autorisés pour un emploi en agriculture ou élevage (tableau 16.VI, voir en fin de ce chapitre). La liste des pesticides a été élargie à 7 autres substances sur une base moins restrictive à partir des classifications, de données provenant de la médecine du travail et d'indication faible dans les études épidémiologiques : 3 insecticides

(carbofuran, cyfluthrine, cyperméthrine), 1 herbicide (pendiméthaline) et 3 fongicides (captafol, chlorothalonil, fluaziname). Des études de cas ont rapporté le développement d'un asthme professionnel chez des travailleurs exposés à ces trois fongicides (Royce et coll., 1993 ; Draper et coll., 2003) (tableau 16.VII, voir en fin de ce chapitre).

L'agence européenne Echa procède au classement des produits chimiques, dont les pesticides, selon le règlement CLP[64] (*Classification Labelling and Packaging)*. La classification « irritant des voies respiratoires » (H335) est rapportée pour les pesticides suivants : cyperméthrine, paraquat, 2,4-D, 2,4,5-T et chlorothalonil. En sélectionnant la classe des « irritants cutanés » (H315), « sensibilisants cutanés » (H317) et/ou « irritants des voies respiratoires » (H335) sur la base de données de l'Echa (guide CLP), une grande majorité des pesticides sélectionnés sont déclarés irritants ou sensibilisants (tableaux 16.VI et VII, voir en fin de ce chapitre).

Sur la base de la liste des 17 pesticides suspectés pour affecter la santé respiratoire d'après les résultats épidémiologiques, élargie à 7 autres, quels sont les mécanismes physiopathologiques qui peuvent être évoqués pour expliquer la pathogénicité ?

Mécanismes généraux de toxicité

Avant d'aborder les résultats obtenus sur des systèmes biologiques *in vivo* ou *in vitro*, quelques observations et limitations des données sont à prendre en compte.

Certains pesticides sont connus pour leurs effets pulmonaires lors d'une intoxication aiguë à forte dose. Ainsi *i*) les organophosphorés et carbamates inhibiteurs de l'acétylcholinestérase provoquent un syndrome muscarinique et nicotinique avec une insuffisance pulmonaire contribuant au tableau clinique de l'intoxication ; *ii*) le paraquat après ingestion *per os* est distribué en particulier vers le parenchyme pulmonaire induisant une fibrose retardée suite à une réaction inflammatoire. Cependant, dans le cadre des effets potentiels des pesticides sur la santé pulmonaire, les doses d'exposition sont plus faibles que celles relevées en toxicité aiguë, la durée d'exposition est longue et les pathologies relèvent d'une atteinte chronique du poumon. Il est donc discutable d'extrapoler des mécanismes décrits à forte dose à ceux qui participent à un développement pathologique à faible dose.

En conséquence, les publications utilisant des doses sub-toxiques et les

64. https://echa.europa.eu/fr/guidance-documents/guidance-on-clp [consulté le 9 avril 2020].

expositions sub-chroniques ou chroniques ont été retenues. Si les doses d'exposition sont généralement fortes pour l'expérimentation chez les rongeurs, en revanche les écotoxicologues exposent les poissons ou autres organismes marins à des doses retrouvées dans l'environnement. Pour identifier des mécanismes en toxicologie chronique pulmonaire induite par les 17 pesticides, la recherche des articles scientifiques a été orientée vers des mécanismes potentiellement partagés tels que le stress oxydant et les systèmes de défense, les dysfonctionnements de la mitochondrie et l'immunotoxicité.

Les mécanismes généraux tels que les processus inflammatoires et l'immunomodulation seront discutés sur la base de résultats provenant de divers modèles, puis la toxicité pulmonaire sera illustrée avec quelques-uns des pesticides identifiés en épidémiologie et enfin quelques pesticides non retenus jusqu'à présent seront évoqués quant à leur potentielle toxicité pulmonaire chez l'être humain.

Stress oxydatif

Parmi les facteurs physiopathologiques conduisant au développement de l'asthme ou de la BPCO, l'induction d'un stress oxydant associé à une réaction inflammatoire pourrait représenter un mécanisme commun aux pesticides identifiés en épidémiologie.

Pour évaluer l'induction d'un stress oxydant, la détermination et la quantification de marqueurs cellulaires ou tissulaires reposent sur :

- la caractérisation d'espèces réactives de l'oxygène ($O_2^{\bullet -}$, H_2O_2, $^{\bullet}OH$...), qui sont des produits secondaires du métabolisme (respiration mitochondriale, catabolisme des bases puriques, synthèse des prostaglandines, métabolisme des xénobiotiques) ou produits de réactions enzymatiques spécifiques de types cellulaires (NADPH oxydases, NO synthases, myélopéroxydases). Cette caractérisation peut être délicate car ces espèces réagissent très rapidement avec plusieurs types de cibles cellulaires ;
- l'évaluation de modifications d'activité des systèmes de défense enzymatique (superoxyde dismutase-SOD, glutathion peroxydase-GPx, glutathion réductase-GR, système thiorédoxine, hème oxygénase-HO) ou non enzymatique de nature protéique (céruléoplasmine, métallothionéines...) ou non protéique (glutathion-GSH, acide lipoïque...) ;
- l'oxydation des macromolécules et dérivés : lipides (*low density lipoprotein*-LDL), acides gras polyinsaturés oxydés et produits de décomposition (malonedialdéhyde-MDA, 4HNE ou de réduction : isoprostanes...), ou protéines cibles (inhibition de caspases, induction de métalloprotéinases, régulation de facteurs de transcription tels que le *nuclear factor-kappa* B -NFkB, le *nuclear*

factor erythroid-2-related factor 2-NrF2...), ou ADN (cassures, formation d'adduits comme la 8 OH-déoxyguanosine...) ;

• suivi et quantification de marqueurs de l'inflammation (TNFα, IL18, ICAM-1, MCP-1, HNE...).

Comme la majorité de l'information épidémiologique est obtenue sur la base de la cohorte AHS, des pesticides potentiellement délétères pour la santé respiratoire peuvent ne pas être recensés car les pesticides utilisés aux États-Unis sont pour partie différents de ceux utilisés en France et en Europe. Par exemple, les fongicides qui sont peu représentés dans les données nord-américaines, sont très utilisés en agriculture en France. Une interrogation bibliographique croisant les mécanismes physiopathologiques décrits pour l'asthme et la BPCO avec les mécanismes toxicologiques des pesticides a conduit à l'identification de 6 autres pesticides d'intérêt (mancozèbe, méthoxychlore, deltaméthrine, indoxacarbe, imidaclopride, fipronil) plus le butoxyde de pipéronyle (PBO ; *piperonyl butoxide*), un agent ajouté dans les formulations commerciales, qui potentialise les effets de certains pesticides par inhibition du métabolisme. Ces pesticides n'ont pas été identifiés par les données épidémiologiques mais sont discutés au vu de leur propriété d'immunomodulation (tableau 16.VIII, voir en fin de ce chapitre).

Des effets pro-oxydants, mitotoxiques, ou immunomodulateurs de l'ensemble de ces pesticides sont décrits sur des systèmes expérimentaux *in vivo* ou *in vitro* en condition d'exposition sub-létale (tableau 16.IX, voir en fin de ce chapitre). L'induction d'un stress oxydatif caractérisé par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et/ou de l'oxydation de macromolécules et/ou la régulation des systèmes de défense est retrouvée pour les 30 pesticides plus le PBO. Bien que les modèles *in vivo* ou *in vitro* ne ciblent pas directement une toxicité pulmonaire, ces résultats indiquent un potentiel effet pro-inflammatoire au niveau pulmonaire qui dépend en outre de la voie d'exposition, des doses utilisées et du temps d'exposition.

Mitotoxicité

Un dysfonctionnement mitochondrial est observé pour des organophosphorés, carbamates, organochlorés, pyréthrinoïdes ainsi que quelques autres pesticides (tableau 16.IX, voir en fin de ce chapitre). Les expérimentations chez les rongeurs sont conduites sur la base d'une analyse de la neurotoxicité et l'extrapolation au parenchyme pulmonaire doit être vérifiée. Le modèle *C. elegans* dans une expérimentation de neurotoxicité montre un effet sur le fonctionnement mitochondrial avec production de ROS suite à une exposition au glyphosate (Bailey et coll., 2018). De même, le fluaziname provoque

un effet de découplage de la chaîne respiratoire chez le poisson zèbre (Wang et coll., 2018). Cependant si ces modèles *in vivo* sont informatifs sur les mécanismes de toxicité, l'extrapolation au système pulmonaire mérite des compléments expérimentaux en ciblant les mitochondries du parenchyme pulmonaire.

Immunomodulation

Les pesticides peuvent exercer un effet immunomodulateur correspondant soit à :

- une immunosuppression avec pour conséquence une augmentation de susceptibilité aux maladies, par exemple en potentialisant les effets d'allergènes qui jouent un rôle clé dans le développement des allergies du système respiratoire ;
- une immunostimulation avec pour conséquence le développement potentiel d'une allergie ou d'un effet d'auto-immunité.

Dans le cas des pathologies respiratoires, la conduite d'expérimentations est réalisée sur des modèles cellulaires *in vitro*, ou *in vivo* en incluant parfois une analyse du liquide de lavage broncho-alvéolaire (BAL).

Les pesticides peuvent interférer *in vitro* ou *in vivo* avec la réponse immunitaire incluant des effets sur la production d'anticorps, la prolifération des cellules T, l'altération du profil de cytokines, l'inhibition d'activité des cellules *natural killer* (NK), des *lymphokine-activated killer* (LAK) et des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) (Corsini et coll., 2013).

Dans la liste des pesticides (tableau 16.V, voir en fin de ce chapitre), les organophosphorés sont décrits depuis une vingtaine d'années comme des agents susceptibles d'interférence avec le système immunitaire conduisant à un effet immunotoxique reposant sur des réseaux de régulation à la fois cholinergique et non cholinergique (Galloway et Handy, 2003). L'immunotoxicité résultant de l'action de carbamates et des organophosphorés reposerait non exclusivement sur les mécanismes suivants :

- inhibition de la voie d'exocytose des cellules NK, LAK et CTL ;
- inhibition de la voie Fas/FasL des cellules NK, LAK et CTL ;
- induction d'apoptose des cellules immunitaires, conséquence d'une inhibition d'estérases ou de la production d'un stress oxydatif (Galloway et Handy, 2003).

Les organochlorés, comme le DDT, l'heptachlore, et le chlorothalonil mais aussi d'autres substances de cette famille, présentent un effet immuno-

stimulant ou -dépresseur (Corsini et coll., 2013). Des agriculteurs exposés au DDT ont été suivis et la concentration plasmatique de DDE est corrélée à une diminution de concentration d'IgG (Cooper Glinda et coll., 2004). Les concentrations plasmatiques de pentachlorophénol (PCP), hexachlorocyclohexane (HCH), polychlorobiphényles (PCB) et hexachlorobenzène (HCB) ont été déterminées chez des agriculteurs exposés ainsi que celles de marqueurs immunitaires. Les résultats indiquent que l'exposition aux PCP, HCB ou HCH est associée à des anomalies du système immunitaire mais de faible intensité (Daniel et coll., 2001). Par exemple pour une exposition d'agriculteurs au HCB, il est retrouvé à long terme une suppression de la production d'IFN-γ (Daniel et coll., 2001). Une autre étude montre une augmentation des concentrations d'IgG et IgM chez des agriculteurs exposés au HCB (Queiroz et coll., 1998). Une analyse *in vitro* d'un effet immunomodulateur sur des cellules NK humaines induit par 11 organochlorés et dérivés a conclu à un effet inhibiteur sur les fonctions des cellules NK, le PCP correspondant à l'agent le plus efficace. En outre, ces composés exercent un effet immunomodulateur sur d'autres cellules mononucléées, cellules T et B ainsi que sur des monocytes (Reed et coll., 2004).

Le chlorothalonil active le processus inflammatoire caractérisé par une augmentation de la prolifération de cellules RAW 264.7 et la production de cytokines pro-inflammatoires IL-1β, IL-6, TNF-α, et IFN-γ (Weis et coll., 2019).

Mécanismes épigénétiques

Les mécanismes proposés pour rendre compte des pathologies chroniques induites par une exposition aux pesticides sont le stress oxydatif, la perturbation endocrinienne, le dysfonctionnement mitochondrial et l'immunomodulation. Mais, il existe aussi vraisemblablement des modifications épigénétiques comme suggéré par des études toxicologiques et épidémiologiques. En effet, la méthylation des îlots CpG de l'ADN est altérée pour des cellules *in vitro* exposées à des pesticides (Zhang et coll., 2012). Une cohorte néerlandaise en population générale a montré que l'exposition professionnelle à des pesticides est associée à un profil de méthylation différent en particulier pour le sous-groupe des patients avec une obstruction bronchique (van der Plaat et coll., 2018). L'analyse de la méthylation de l'ADN a été réalisée sur des prélèvements sanguins de patients et sur les 21 sites CpG différentiellement méthylés, 20 d'entre eux étaient associés à une forte dose d'exposition. Parmi les gènes identifiés sur la base de ces 20 CpG, certains sont connus comme associés à la physiopathologie pulmonaire tels que : *ALLC*, *PTPRN2*, *LRRC3B* et *PAX2*.

Exemple de pesticides et mécanismes spécifiques impliqués dans la toxicité pulmonaire

Les familles de pesticides identifiés dans les études épidémiologiques appartiennent essentiellement aux organophosphorés, carbamates, organochlorés, pyréthrinoïdes et aux bipyridiles.

Organophosphorés et carbamates

Des études de cas suggèrent que l'exposition aiguë ou chronique aux pesticides organophosphorés serait associée à des pathologies respiratoires incluant l'asthme, avec notamment une hyperréactivité des voies respiratoires et une respiration sifflante (Bryant, 1985 ; Deschamps et coll., 1994). L'abondante littérature sur la toxicité des organophosphorés rapporte les effets observés en toxicité aiguë à forte dose à la fois lors d'une approche médicale d'un traitement du toxidrome induit par ces insecticides mais aussi par utilisation de ces molécules en tant que gaz de combat. Une explication des effets toxiques pulmonaires des organophosphorés repose sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE, EC 3.1.1.7), enzyme de dégradation de l'acétylcholine (ACh) ciblée par des organophosphorés et carbamates (Senthilselvan et coll., 1992). L'inhibition de l'AChE provoque une augmentation d'ACh responsable d'une sur-stimulation cholinergique dans le système nerveux mais aussi au niveau des tissus périphériques conduisant potentiellement à une détresse respiratoire. Le système cholinergique présente une variété importante d'acteurs, qu'il convient de rappeler.

- ***Liaison de l'acétylcholine (ACh) à des récepteurs muscariniques et nicotiniques***

Le système cholinergique en rapport avec l'acétylcholine, peut être différencié entre système neuronal et non neuronal. L'ACh est le neurotransmetteur classique du système nerveux parasympathique au niveau de la transmission ganglionnaire et des jonctions effectrices, mais est aussi synthétisée et relarguée par une grande variété de cellules non neuronales. Deux classes de récepteurs, les récepteurs muscariniques et nicotiniques, sont de potentielles cibles de l'ACh.

Cinq types de récepteurs muscariniques à l'ACh ont été identifiés : M1, M2, M3, M4 et M5 (Eglen, 2006). Au niveau des voies respiratoires humaines, seuls trois types sont détectés (M1, M2 et M3) avec une expression élevée de M1 au niveau du poumon et des voies alvéolaires alors que M2 et M3 sont majoritairement exprimés au niveau des voies aériennes proximales (Gwilt et coll., 2007). Ces récepteurs sont exprimés dans presque chaque type cellulaire, incluant le muscle lisse des voies respiratoires et vasculaires, les

différentes cellules épithéliales de surface et des glandes sous-muqueuses, les cellules endothéliales ainsi que la majorité des cellules immunitaires (Racké et coll., 2006). L'activation des récepteurs M3 provoque une bronchoconstriction ainsi que la sécrétion de mucus dans les voies aériennes. En revanche, les récepteurs M2 des nerfs parasympathiques exercent une activité autorégulatrice en diminuant le relargage d'ACh par le nerf vague limitant ainsi l'effet bronchoconstricteur induit *via* les récepteurs M3. Outre un effet direct du neuromédiateur, le NO a été impliqué dans le dysfonctionnement du récepteur M2 (Coulson et Fryer, 2003).

Les récepteurs nicotiniques (nAChR) appartiennent à la superfamille des récepteurs pentamériques à boucle cystéine. Ils sont composés de 5 sous-unités identiques ou hétérologues (α, β, γ, δ, ε) arrangées de manière à former un canal ionique (Changeux, 2010). Il existe différents isotypes des récepteurs nicotiniques avec un arrangement des sous-unités différent selon leur localisation : *i*) au niveau des jonctions neuromusculaires des muscles somatiques, *ii*) au niveau ganglionnaire, *iii*) mais aussi exprimé par différentes cellules dont celles du poumon et des voies aériennes (bronchiques, alvéolaires, glandulaires, endothéliales, macrophages...) (Racké et coll., 2006).

La choline acétyltransférase (enzyme de synthèse de l'ACh), le transporteur de la choline et le produit de la réaction (ACh) sont présents dans de nombreuses cellules non neuronales telles que les cellules du poumon et les voies aériennes ainsi que des cellules du système immunitaire (Kirkpatrick et coll., 2003 ; Pfeil et coll., 2003). L'ACh relarguée par les cellules non neuronales peut cibler les récepteurs nicotiniques et muscariniques et est impliquée dans l'adhésion et la prolifération des cellules épithéliales ainsi que dans le contrôle de la production de l'histamine par les mastocytes (Racké et coll., 2006). En conséquence, ce système cholinergique non neuronal exprimé par les cellules inflammatoires joue un rôle potentiel dans le processus d'initiation ou d'exacerbation de la BPCO et de l'asthme (Gwilt et coll., 2007).

Comme indiqué ci-dessus, les effets toxiques pulmonaires des organophosphorés ont été initialement suspectés de passer par une inhibition de l'acétylcholinestérase. L'ACh est certes le substrat de cette enzyme mais lie donc également de nombreux récepteurs (M et nAChR) avec une haute affinité ce qui a conduit à l'étude de leurs interactions avec les organophosphorés, notamment à des concentrations n'inhibant pas l'AChE.

- ***Mécanismes toxicologiques à des concentrations qui n'inhibent pas l'acétylcholinestérase (AChE)***

Ainsi, au niveau pulmonaire, la bronchoconstriction par activation des récepteurs M3 des muscles lisses des voies respiratoires peut être observée à

des concentrations de pesticides qui n'inhibent pas l'AChE. Par exemple chez le cochon d'Inde, le chlorpyrifos provoque une hyperréactivité des voies respiratoires et une augmentation de la bronchoconstriction induite par voie vagale en l'absence d'inhibition de l'AChE (Fryer et coll., 2004). Le mécanisme repose sur une inhibition des récepteurs muscariniques auto-inhibiteurs M2 des nerfs parasympathiques alimentant les muscles lisses des voies respiratoires (Coulson et Fryer, 2003). La perte de fonction des récepteurs M2 (inhibant le relargage d'ACh par le nerf vague, voir plus haut) entraîne donc une augmentation de la libération d'ACh par les nerfs parasympathiques, ce qui potentialise la bronchoconstriction par voie vagale contribuant à l'hyperréactivité des voies respiratoires. Ce mécanisme est en accord avec des études antérieures démontrant que les récepteurs M2 neuronaux étaient dysfonctionnels pour des modèles animaux développant un syndrome asthmatique (Fryer et Wills-Karp, 1991). Le même résultat a été observé chez des cochons d'Inde suite à une exposition au parathion et diazinon par injection sous-cutanée (Lein et Fryer, 2004). De plus, la production de mucus en partie contrôlée par l'activité des récepteurs M2 est augmentée suite à l'exposition aux organophosphorés (Rogers, 2001).

Certains organophosphorés semblent également responsables d'une inflammation pulmonaire : c'est le cas du parathion qui provoque une activation macrophagique locale. Ce type d'activation ou l'administration locale de TNF-α ou IL-1β induit une hyperréactivité bronchique (Kips et coll., 1992 ; Zhang et coll., 2007). En retour, un blocage de TNF-α ou IL-1β avec des agonistes spécifiques protège d'une hyperréactivité bronchique causée par des allergènes. Ainsi, des liposomes-clodronate ont été utilisés pour induire une apoptose de macrophages alvéolaires (administration J1 et J3) chez des cochons d'Inde traités à J4 avec 1 mg/kg en injection s.c avec du parathion. L'effet protecteur du clodronate (qui limite donc le nombre de macrophages par stimulation de l'apoptose) confirme que le parathion active les macrophages lesquels induisent une hyperréactivité des bronches (Proskocil et coll., 2013).

Le chlorpyrifos est inducteur d'une hyperactivité bronchique (prenant en compte l'ensemble des processus précités) chez le cobaye avec un effet de dimorphisme sexuel (Shaffo et coll., 2018b). Le mécanisme est à nouveau indépendant de l'inhibition de l'AChE avec une concentration de l'ordre de celle retrouvée dans l'environnement. L'exposition au chlorpyrifos contribue à une exacerbation de l'asthme avec un effet plus marqué chez les femelles (réponse à 24 h et 7 j) que chez les mâles (réponse à 7 j). Cette sensibilité plus forte des femelles n'implique pas que le mécanisme impliqué dans l'hyperréactivité bronchique soit identique entre les deux sexes (Shaffo et coll., 2018b).

Le parathion semble aussi être responsable d'un effet d'exacerbation du syndrome asthmatique. Ainsi, des souris sont sensibilisées par l'ovalbumine en injection intrapéritonéale puis la réaction d'asthme allergique est déclenchée par inhalation d'une solution d'ovalbumine. Si les souris ont été exposées préalablement aux injections pendant 6 semaines à des organophosphorés insecticides comme le parathion, la réaction allergique est exacerbée comme le démontrent l'activation des éosinophiles et le dosage de cytokines pro-inflammatoires (Nishino et coll., 2013).

Outre les organophosphorés, un certain nombre de carbamates reproduisent des processus biologiques similaires, par exemple l'inflammation, en sur-stimulant les récepteurs cholinergiques conduisant à une induction de l'expression de c-fos et d'IL-2 suivie d'un signal pour les lymphocytes T et B et d'une réponse inflammatoire des macrophages (Banks et Lein, 2012). Le bénomyl induit un stress oxydant en exposition aiguë mais aussi en exposition chronique avec une augmentation de la peroxydation des lipides (LPO) (Banks et Soliman, 1997). Or un effet stress oxydant outre son action directe, contribue à l'effet immunotoxique rapporté pour les carbamates (Gao et coll., 2015).

Les effets toxiques observés à des doses non inhibitrices de l'acétylcholinestérase plasmatique ou cérébrale devraient être pris en compte par la réglementation en toxicologie. Puisque les doses journalières acceptables pour ces pesticides organophosphorés et carbamates sont calculées sur la base de l'inhibition de l'AChE (du fait de leur mode d'action recherché chez les insectes), une révision des valeurs toxicologiques de référence devrait être entreprise.

Organochlorés

Des résultats issus d'une cohorte prospective mentionnent une association entre l'exposition des mères aux organochlorés et une diminution de la fonction ventilatoire d'une part et une prédisposition à la maladie asthmatique chez l'enfant d'autre part (Abellan et coll., 2019). Le développement des poumons résulte d'une interaction complexe entre facteurs de croissance, hormones, facteurs génétiques et environnementaux. Les récepteurs œstrogéniques et androgéniques sont exprimés dans les poumons et leur modulation joue un rôle important dans le développement des poumons du fœtus (Carey et coll., 2007).

Or les organochlorés sont des perturbateurs endocriniens en raison de leurs propriétés œstrogéniques et anti-androgéniques. Outre une interaction directe via les récepteurs œstrogéniques, les organochlorés peuvent induire l'expression de AhR (Gaspar-Ramírez et coll., 2015). L'activation de AhR

a été associée entre autres à un retard de développement du poumon chez le rat et à une réponse pro-inflammatoire (Kransler et coll., 2008). Ce récepteur détecte par ailleurs de nombreux polluants environnementaux et l'hypothèse d'une sensibilisation du système pulmonaire par les organochlorés liée à une augmentation de AhR n'est donc pas exclue.

- ***Un effet d'exacerbation du syndrome asthmatique ?***

Comme rapporté avec le parathion, des souris présentant un asthme allergique ont été exposées au méthoxychlore qui provoque une exacerbation de la pathologie avec activation des éosinophiles et production de cytokines pro-inflammatoires (Nishino et coll., 2013).

Un effet similaire est rapporté lorsque des rongeurs sont exposés à des pesticides par voie orale avec ou sans traitement par des lipopolysaccharides bactériens (LPS) en fin d'expérimentation. La réaction inflammatoire pulmonaire est quantifiée soit après exposition au pesticide seul ou au pesticide plus le traitement au LPS. Le lindane (Tewari et coll., 2017) induit une inflammation pulmonaire. À dose plus faible il conduit à l'exacerbation de l'inflammation induite par une instillation nasale de LPS.

Pyréthrinoïdes

Chez les animaux, les effets sub-létaux des pyréthrinoïdes incluent des perturbations du comportement, du développement et de l'équilibre hormonal (Wolansky et Harrill, 2008 ; Koureas et coll., 2012). Chez les mammifères exposés aux pyréthrinoïdes, les comportements moteurs, sexuels, d'apprentissage, d'anxiété et de peur peuvent être modifiés. Chez l'être humain, les symptômes rapportés à la suite d'une exposition domestique chronique comprennent des nausées, vertiges et douleurs respiratoires mais ces symptômes sont non spécifiques et difficiles à relier à une simple exposition aux pyréthrinoïdes.

La perméthrine, un insecticide pyréthrinoïde de type I, interfère avec les canaux sodiques voltage-dépendants des neurones et perturbe la signalisation cellulaire (Imamura et coll., 2000). Cet insecticide était considéré comme peu toxique pour l'être humain mais montre cependant à dose sub-létale en chronique de nombreux effets toxiques en particulier neurotoxicité, génotoxicité, toxicité de la reproduction, fœtotoxicité (Zhao et coll., 2016). Des publications en nombre croissant proposent que le stress oxydant puisse représenter l'un des mécanismes de toxicité, effet observé chez diverses espèces animales (rats, souris, poisson zèbre, palourdes). Si la toxicité pulmonaire n'a pas été identifiée, voire recherchée, sur les modèles

expérimentaux, l'effet stress oxydant peut être le support d'un mécanisme de toxicité en rapport avec une association entre exposition et santé pulmonaire trouvée d'après des résultats d'épidémiologie.

Paraquat

La paraquat, un herbicide appartenant à la famille des ammoniums quaternaires (bipyridiles) est interdit depuis 2007. Après absorption, sa distribution tissulaire est large avec une forte diffusion dans les poumons, les reins et le foie. La molécule est peu métabolisée et subit dans les cellules un cycle d'oxydo-réduction (« *redox cycling* ») aboutissant à la production d'espèces réactives de l'oxygène à l'origine d'une peroxydation lipidique et une consommation du glutathion et surtout du NADPH (Ahmed et coll., 2019). Le paraquat est connu comme toxique pulmonaire en exposition aiguë (accident ou suicide) en raison de ses effets pro-oxydants conduisant à une fibrose pulmonaire. Cet agent est un irritant (classement CLP, H335) et s'il n'est pas responsable d'une intoxication systémique notable lors d'un épandage, il peut induire une irritation des voies aériennes supérieures avec épistaxis, douleurs buccopharyngées et toux.

Toxicité potentielle de pesticides non identifiés actuellement en épidémiologie

Sur la base des cibles mécanistiques, 6 pesticides ont été identifiés comme de potentiels contributeurs d'une toxicité pulmonaire. Le mécanisme évoqué concerne un impact sur l'immunoréactivité du parenchyme pulmonaire et/ou des voies aériennes.

L'exposition au mancozèbe, un dérivé dithiocarbamate non inhibiteur des cholinestérases, peut être identifiée par dosage urinaire de son métabolite majeur, l'éthylène thiourée. L'exposition à ce fongicide *i*) augmente le nombre de leucocytes et la réponse aux mitogènes, *ii*) augmente le nombre et pourcentage de cellules CD19+, *iii*) réduit le taux de cellules CD25+, et *iv*) modifie le patron de production de cytokine (Corsini et coll., 2005). Sur la lignée macrophagique THP-1, le mancozèbe module la réponse induite par les lipopolysaccharides bactériens (LPS) en diminuant la production de TNF-α (Corsini et coll., 2006). De plus, le mancozèbe active le processus inflammatoire caractérisé par une augmentation de la prolifération de cellules RAW 264.7 et la production de cytokines pro-inflammatoires IL-1β, IL-6, TNF-α, et IFN-γ (Weis et coll., 2019).

L'ovalbumine est un antigène fréquemment utilisé pour tester l'allergie des voies aériennes par exemple avec une souche de souris (NC/Nga) hypersensible aux réactions allergiques. Une pré-exposition au méthoxychlore, une molécule organochlorée, module la réaction inflammatoire et augmente la sévérité de la réponse allergique des voies aériennes pulmonaires (Nishino et coll., 2013). Le méthoxychlore agissant comme un xénoestrogène environnemental amplifie le processus de dégranulation des mastocytes *in vitro* testé sur la lignée RBL-2H3 (issue d'une leucémie basophile du rat) et sur des cellules de moelle osseuse de souris (BBMC, *bone marrow mononuclear cell*) (Yasunaga et coll., 2015). Cette fonction peut être en rapport avec une exacerbation de réactions inflammatoires potentiellement au niveau pulmonaire.

Les LPS sont utilisés comme antigène inducteur de production de cytokines régulatrices d'une réaction inflammatoire. Ils se lient au récepteur TLR4 (*Toll-like receptor* 4) conduisant à la production de médiateurs pro-inflammatoires comme le TNF-α (*tumor necrosis factor* α). La deltaméthrine, seule ou en co-exposition avec les LPS, induit une réaction immunopositive pour le récepteur TLR4 et le TNF-α en différentes localisations pulmonaires. À faible dose d'exposition, la deltaméthrine augmente la réaction pro-inflammatoire du LPS (Tewari et coll., 2018).

L'indoxacarbe (famille des oxadiazines), pour une exposition de 4 mg/kg chez la souris, augmente la réaction pro-inflammatoire du poumon suite à une sensibilisation par les LPS (Sandeep et coll., 2016).

L'exposition par voie orale de l'imidaclopride chez la souris ne modifie pas la composition cellulaire d'un lavage broncho-alvéolaire. En revanche une pré-exposition des souris à l'imidaclopride potentialise l'expression de TRL4 et la production de TNF-α (Pandit et coll., 2016).

L'exposition *per os* de souris au fipronil à la dose du 1/10 et 1/20 de la DL_{50} pendant 90 jours induit une inflammation du poumon, objectivée par une infiltration péri-bronchique et péri-vasculaire de cellules inflammatoires mononucléées et une congestion des vaisseaux sanguins. Cette inflammation est médiée par la voie de la polarité planaire cellulaire (*planar cell polarity* ; PCP) avec une augmentation d'expression de Wnt-6 et la production d'IL-17 et IL-4 (Pandit et coll., 2019). Or l'augmentation d'expression de Wnt-6 avec l'activation de la voie Wnt/PCP induit une polarisation des macrophages en phénotype M2 (macrophage alternativement activé impliquant l'expression entre autres de c-myc) (Schaale et coll., 2013).

Enfin le PBO est utilisé comme agent synergique de l'activité de pesticides, et en particulier des pyréthrinoïdes, en inhibant l'activité enzymatique de

mono-oxygénases hépatiques. Des épisodes de toux non infectieuses ont été rapportés chez des enfants de 5-6 ans et associés à des dosages de PBO et perméthrine en période prénatale. L'effet observé peut être dû au PBO mais aussi à l'exposition aux pyréthrinoïdes environnementaux, le PBO jouant le rôle d'indicateur (Liu et coll., 2012). Cependant, le PBO conduit aussi à une réaction d'exacerbation de la réaction asthmatique allergique bien qu'avec un effet moins prononcé que celui trouvé pour le parathion (Nishino et coll., 2013), résultat qui peut être rapproché des données épidémiologiques.

Conclusion

Ce chapitre présente un état des lieux de l'impact de l'exposition aux pesticides sur la santé respiratoire et plus précisément la fonction ventilatoire, l'asthme, la BPCO, la bronchite chronique et les symptômes respiratoires. Les travaux épidémiologiques publiés depuis 2014, date à laquelle des revues de la littérature ont été réalisées, sont présentés et discutés sur la base des connaissances épidémiologiques disponibles jusqu'en 2013 et des données toxicologiques.

L'asthme et la BPCO sont des maladies respiratoires chroniques fréquentes dont la prévalence a augmenté au cours des dernières décennies. L'asthme est la maladie chronique la plus fréquente chez les enfants, avec une prévalence en France de 11 % ; la prévalence de la BPCO atteint 5 à 10 % de la population des plus de 45 ans en France.

La littérature sur l'impact des pesticides sur la santé respiratoire est importante avec au total une centaine d'articles dont les deux-tiers portent sur les expositions professionnelles : 67 articles sur les expositions professionnelles, dont 28 articles depuis 2014, et 34 articles sur les expositions environnementales, dont 14 depuis 2014. On note une forte variabilité de l'estimation de l'exposition et de la définition de l'évènement de santé ; de ce fait seules deux méta-analyses, l'une ciblant l'exposition professionnelle aux pesticides sur le risque de BPCO/bronchite chronique chez l'adulte et une seconde sur l'association entre l'exposition prénatale au DDE et la santé respiratoire des enfants ont été publiées (Gascon et coll., 2012 ; Pourhassan et coll., 2019).

Au sujet des expositions professionnelles, la méta-analyse récente basée sur 9 cohortes conclut à un risque de BPCO ou bronchite chronique significativement augmenté avec l'exposition aux pesticides (OR = 1,33 ; IC 95 % [1,21-1,47]). Par ailleurs, les résultats des récentes études de cohortes en population générale, dont l'exposition était basée sur la matrice emploi-exposition ALOHA, et des cohortes d'agriculteurs ont permis d'étayer le rôle

de l'exposition aux pesticides sur le niveau et le déclin de la fonction ventilatoire et sur l'incidence de la BPCO (tableau 16.IV, voir en fin de ce chapitre). Les études exposés-non exposés ou les études transversales conduites dans différentes régions du monde convergent pour indiquer un effet délétère de l'exposition professionnelle aux pesticides sur la santé respiratoire, et plus particulièrement les symptômes respiratoires, l'asthme, la fonction respiratoire, bien que la plupart de ces études aient été conduites sur des échantillons de petite à moyenne taille (< 300). En milieu professionnel, les études sur les cohortes d'agriculteurs, avec en premier lieu la cohorte AHS qui a évalué l'utilisation de pesticides spécifiques sur un large nombre d'agriculteurs (> 20 000), ont permis d'identifier des substances candidates pour la santé respiratoire (tableau 16.V, voir en fin de ce chapitre).

En ce qui concerne les expositions environnementales, 2 études récentes n'ont pas mis en évidence d'association significative entre l'exposition pré- ou post-natale au DDE sur la santé respiratoire des enfants d'âge scolaire (sifflements, asthme ou fonction ventilatoire). Cependant, une méta-analyse portant sur 10 études a conclu à un effet – à la limite du seuil de signification – de l'exposition prénatale au DDE sur les symptômes de bronchite et sifflements à 18 mois (OR = 1,03 [1,00-1,07] pour un doublement de la concentration de p-p'-DDE dans le sang du cordon), mais l'étude ne retrouvait pas d'association avec les symptômes à 4 ans. Pour ce qui est des expositions environnementales aux pesticides organophosphorés, certains résultats obtenus à ce jour suggèrent un impact potentiel de ces pesticides sur la santé respiratoire des enfants, mais d'autres études sont nécessaires pour conclure.

Les liens entre exposition à un certain nombre de pesticides et santé respiratoire ont été évalués sur la base de mécanismes physiopathologiques analysés sur des modèles animaux ou des lignées cellulaires *in vitro*. Il ressort de la littérature une constante production de stress oxydant suite à l'exposition aux 17 pesticides retenus dans la liste provenant des données épidémiologiques (tableau 16.V, voir en fin de ce chapitre). Les trois effets recherchés, stress oxydant, mitotoxicité et immunomodulation de la réponse inflammatoire sont retrouvés pour le chlorpyrifos et la perméthrine. La participation de deux facteurs (stress oxydant et mitotoxicité) est retrouvée pour le malathion, l'HCH, le DDT, l'atrazine, le glyphosate et le paraquat ; pour la participation du stress oxydant et de l'immunomodulation ces deux facteurs sont retrouvés pour le diazinon, le parathion, et le 2,4-D. Ainsi, le lien entre une exposition aux 17 pesticides et santé respiratoire est conforté par des données mécanistiques en particulier pour 11 d'entre eux, y compris le chlorpyrifos et la perméthrine qui sont associés aux 3 facteurs. Parmi les 7 pesticides issus d'un classement moins restrictif (tableau 16.VII, voir en fin de ce chapitre),

6 sont associés à l'induction d'un stress oxydatif. Outre l'effet stress oxydatif, le carbofuran présente une activité mitotoxique, et la cyfluthrine et le chlorothalonil un effet immunomodulateur. Ces données mécanistiques en particulier lorsqu'elles sont associées à un effet irritant (H317, H335) pour le chlorothalonil devront être validées par des résultats d'enquêtes épidémiologiques, mais illustrent l'intérêt d'une réflexion partagée entre épidémiologie et toxicologie moléculaire. Par ailleurs, sur la base d'un effet immunomodulateur au niveau pulmonaire, 6 pesticides non retrouvés dans les données épidémiologiques ont été considérés : mancozèbe, méthoxychlore, deltaméthrine, indoxacarbe, imidaclopride et fipronil ainsi qu'un agent synergisant, le PBO (tableau 16.VIII, voir en fin de ce chapitre). La pertinence d'une démarche allant d'un impact sur une cible vers la recherche d'un lien potentiel en pathologie chez l'être humain est à tester, par exemple sur ces composés.

L'impact des pesticides sur la santé respiratoire a longtemps été sous-estimé, l'un des facteurs majeurs étant l'absence de recherche d'un tel effet sur le modèle expérimental rongeur. Les attentes réglementaires sont majoritairement conditionnées par des expérimentations selon les lignes directrices OCDE réalisées par les industriels historiquement avec une orientation en génotoxicité/mutagenèse/cancérogenèse. D'autres dysfonctionnements étaient peu évalués et le questionnement récent sur l'effet perturbateur endocrinien a permis de réévaluer nombre de principes actifs.

Pour ce qui concerne les organophosphorés/carbamate, l'effet toxique pulmonaire repose sur l'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE), enzyme de dégradation de l'acétylcholine et cible de ces agents. Cependant, l'effet bronchoconstricteur par activation des récepteurs muscariniques M3 des muscles lisses des voies respiratoires a été observé à des concentrations de pesticides qui n'inhibent pas l'AChE. Puisque les doses journalières acceptables pour ces pesticides sont calculées sur la base de l'inhibition de l'AChE (du fait de leur mode d'action recherché chez les insectes), une réflexion sur les valeurs toxicologiques de référence semble nécessaire.

Tableau 16.I : Études épidémiologiques publiées depuis 2014 portant sur le lien entre expositions professionnelles aux pesticides et la santé respiratoire*

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Études de cohortes prospectives en population générale					
De Jong et coll., 2014a Pays-Bas	2 527 adultes (12 772 observations) Cohorte *Vlagtwedde-Vlaardingen*, suivi de 25 ans	Déclin du VEMS et du VEMS/CVF	Exposition aux pesticides (herbicides et insecticides), évaluée par MEE (ALOHA+) pour le dernier emploi et en considérant 3 emplois (les 2 derniers et le plus important)	Âge, sexe, niveau de fonction respiratoire au début du suivi, paquets-années de tabac au dernier suivi + exposition professionnelle à poussières/gaz/fumée	Exposition forte aux pesticides lors du dernier emploi (12 %) associée à un déclin accéléré du VEMS (-5,1 ml/an [-8,0 ; -2,1]) et du ratio VEMS/CVF (-0,09 %/an [-0,15 ; -0,03] par rapport au groupe non exposé Association significative avec l'exposition cumulée Interaction significative avec le tabac : l'association était observée uniquement chez les fumeurs.
De Jong et coll., 2014b Pays-Bas	11 851 adultes (18-89 ans) de la cohorte *LifeLines* 2 364 adultes de la cohorte *Vlagtwedde-Vlaardingen* Analyse transversale	Niveau de la fonction respiratoire (VEMS, VEMS/CVF) Obstruction bronchique (VEMS/CVF pré-BD < 0,7) et obstruction bronchique modérée/sévère (VEMS/CVF pré-BD < 0,7 et VEMS < 80 % prédit)	Exposition aux herbicides, insecticides, et tous pesticides évaluée par MEE (ALOHA+) pour le dernier emploi	Âge, sexe, taille, poids, statut tabagique, paquets-années de tabac	Associations significatives avec VEMS (ml) dans *LifeLines* avec les expositions fortes, β [IC 95 %] : Herbicides : -204 [-350 ; -58] Insecticides : -109 [-197 ; -21] Tous pesticides : -113 [-201 ; -25] VEMS/CVF (%) et obstruction bronchique modérée/sévère associée seulement avec une exposition forte aux herbicides β = -2,8 ; IC 95 % [-4,8 ; -0,7] et OR = 3,6 ; IC 95 % [1,3 ; 9,9]

Tableau 16.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Tagiyeva et coll., 2016 Royaume-Uni	237 adultes qui n'avaient pas de sifflements dans l'enfance, cohorte *WHEASE* (enfants de 10-15 ans recrutés en 1964, suivis pendant 50 ans)	Niveau et évolution sur 25 ans de la santé respiratoire (par Spirométries -VEMS, CVF, DEM_{25-75}) VEMS abaissé (< LIN) Obstruction bronchique (VEMS/CVF post-BD < 0,7) Sifflements qui ont débuté à l'âge adulte (n = 95)	Présence et intensité de l'exposition à 11 asthmogènes (dont biocides/fongicides) évaluées par MEE Exposition : aucune/faible/modérée/forte selon l'intensité et la durée d'exposition (terciles)	Sexe, tabac (avoir fumé > 100 cigarettes), niveau de diplôme + âge pour l'étude de l'évolution de la fonction respiratoire	Exposition biocides/fongicides (48,5 %) associée à : Sifflements : OR = 1,8 ; IC 95 % [1,0-3,1] VEMS<LIN : OR = 3,4 ; IC 95 % [1,1-10,8] Obstruction bronchique : OR = 1,5 ; IC 95 % [0,8-2,6] VEMS, CVF, DEM_{25-75} abaissés, mais non significatif Déclin accéléré du VEMS : β = -6,3 ; IC 95 % [-11,6 ; -1,0] Relation dose-réponse observée avec tous les évènements de santé, sauf CVF
Alif et coll., 2017 Australie	1 335 participants aux suivis de 2002 à 2008 de la cohorte *TAHS* (recrutement des enfants en 1968)	Obstruction bronchique : VEMS/CVF post-BD < 0,7 (ou <LIN) Prévalence de la toux chronique, crachats chroniques et bronchite chronique et dyspnée par questionnaire	Exposition aux herbicides, insecticides et tous pesticides, évaluée par MEE (ALOHA+) Exposition cumulée sur l'ensemble de l'histoire professionnelle	Sexe, statut tabagique, paquets-années de tabac, asthme et niveau socio-économique, exposition professionnelle à poussière/gaz/fumée	Exposition à « tous pesticides » associée à RR [IC 95 %] : Obstruction bronchique : 1,7 [1,0 ; 3,1] Bronchite chronique : 1,8 [1,1 ; 2,9] Toux chronique : 1,8 [1,0 ; 3,0] Crachats chroniques : 2,1 [1,2 ; 3,5] Dyspnée : 1,9 [1,2 ; 3,1] Associations de même ordre de grandeur avec herbicides (significatives pour tous les évènements de santé sauf crachats et dyspnée) et insecticides (significatives pour bronchite chronique et toux chronique) Association significative avec l'exposition cumulée

Tableau 16.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Lytras et coll., 2018 Europe (12 pays)	3 343 adultes (20-44 ans au recrutement) sans asthme et sans BPCO au recrutement Cohorte *ECRHS*, suivi de 20 ans	Incidence de la BPCO définie par VEMS/CVF post-BD < LIN	Exposition à 10 catégories d'agents (dont insecticides, herbicides, fongicides étudiés séparément ou ensemble (tous pesticides)), évaluée par MEE (ALOHA+)	VEMS/CVF au recrutement, âge, sexe, paquets-années, niveau socio-économique, score de « désavantage précoce » (tabac maternel, asthme parental, asthme avant 10 ans, infection respiratoire sévère avant 5 ans)	96 cas incidents RR [IC 95 %] incidence BPCO associé à : Herbicides : 2,0 [0,7-4,1] Insecticides : 2,3 [1,1-4,2] Fongicides : 1,9 [0,9-3,6] Tous pesticides : 2,2 [1,1-3,8] Pas de relation dose-réponse
Lytras et coll., 2019 Europe (15 pays)	8 794 adultes (20-44 ans au recrutement) sans bronchite chronique au recrutement, suivis à ECRHSII et/ou ECRHSIII (13 285 observations) Cohorte *ECRHS*, suivi de 20 ans	Obstruction bronchique : VEMS/CVF post-BD <LIN Sévérité de l'obstruction selon le niveau de VEMS Incidence de : toux chronique (toux habituelle en hiver ≥ 3 mois chaque année) ; crachats chroniques (crachats en hiver ≥ 3 mois chaque année) ; bronchite chronique (toux et crachats chroniques)	Exposition à 10 catégories d'agents non spécifiques (dont insecticides, herbicides, fongicides étudiés séparément ou ensemble), évaluée par MEE (ALOHA+)	Âge, paquets-années de tabac, tabac actuel, niveau socio-économique, asthme actuel sévérité de l'obstruction bronchique	116 cas incidents à ECRHSII Absence d'association significative dans l'ensemble de la population Associations observées chez les femmes avec l'incidence de la bronchite chronique : Herbicides : 1,9 [0,8-4,6] Insecticides : 2,1 [1,1-4,0] Fongicides : 2,0 [1,03-4,0] Tous pesticides : 1,8 [0,9-3,5]
Études de cohortes prospectives d'agriculteurs et étude de suivi (avant/après exposition)					
Tual et coll., 2013 France	14 441 agriculteurs/trices Analyse transversale dans un échantillon aléatoire (10 %) de la cohorte AGRICAN	Prévalence de bronchite chronique diagnostiquée par un médecin, définie par questionnaire auto-administré	Histoire professionnelle sur les différents types d'élevage, cultures et tâches Utilisation des pesticides non spécifique (animaux, culture, cours de ferme) Empoisonnement par pesticides (vie, suivie d'une consultation/hospitalisation)	Âge, sexe, niveau d'éducation, diagnostic d'asthme, rhume des foins, eczéma, maladie du poumon du fermier, maladie cardiovasculaire, IMC, statut tabagique	Risque de bronchite chronique (prévalence = 8,4 %) augmenté avec l'élevage (OR = 1,2 ; IC 95 % [1,0-1,5] et la culture de la pomme de terre (OR = 1,3 ; IC 95 % [1,1-1,6], avec un OR augmenté avec une accumulation de l'exposition et la taille de l'exploitation), et un empoisonnement par pesticides (suivi ou non par une prise en charge médicale, OR = 1,7 ; IC 95 % [1,1-2,4])

Tableau 16.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Baldi et coll., 2014 France	15 494 sujets agriculteurs/agricultrices Analyse transversale dans un échantillon aléatoire (10 %) de la cohorte AGRICAN	Prévalence d'asthme diagnostiqué par un médecin, défini par questionnaire auto-administré Allergie définie par rhume des foins ou eczéma	Histoire professionnelle sur les différents types d'élevage, de culture et tâches Utilisation des pesticides (animaux, culture, cours de ferme) Empoisonnement par pesticides (vie, suivie d'une consultation/hospitalisation)	Âge, sexe, niveau d'éducation, + IMC pour l'asthme non allergique	Risque augmenté de l'asthme allergique avec l'utilisation de pesticide dans les vignes (OR = 1,3 ; IC 95 % [1,0-1,8]), les prairies (1,3 [1,0-1,8]), les vergers (1,6 [1,0-2,4]) et un empoisonnement par pesticides (2,0 [1,4-2,7]) Risque augmenté de l'asthme non allergique avec l'utilisation de pesticides dans la culture de betteraves (OR = 1,5 [1,0-2,1])
Stoecklin-Marois et coll., 2015 États-Unis	702 agriculteurs/trices	Prévalence de l'asthme, la toux chronique, la bronchite chronique, les sifflements persistants évalués par questionnaire	Utilisation de pesticides (non spécifiques) sur les 12 derniers mois, par questionnaire	Âge, sexe et tabac	Pas d'association
Hoppin et coll., 2017 États-Unis	22 134 hommes agriculteurs qui ont participé au suivi 2005-2010 de la cohorte prospective *AHS* Analyse transversale	Sifflements allergiques et non allergiques par questionnaire Allergie définie par le rhume des foins diagnostiqué par un docteur	78 pesticides spécifiques utilisés par au moins 1 % des agriculteurs : 45 herbicides, 25 insecticides, 6 fongicides, 1 fumigant et 1 raticide Exposition actuelle/passée/jamais	Âge, IMC, tabac, État, asthme, nombre de jours d'utilisation de pesticides, nombre de jours d'utilisation d'un tracteur	19 pesticides (utilisation actuelle) associés avec les sifflements allergiques 21 pesticides associés avec les sifflements non allergiques Effet dose-réponse avec plusieurs pesticides : 2,4-D, glyphosate, perméthrine, carbaryl, raticide warfarine
Buralli et coll., 2018 Brésil	82 familles d'agriculteurs (48 agriculteurs, 34 apparentés) vus à 2 reprises, pendant la saison des récoltes et hors-saison	Spirométrie Symptômes respiratoires (questionnaire)	Dosage dans le sang de l'activité des cholinestérases (AChE et BChE)	Âge, tabac	Pas de différence des valeurs spirométriques entre les 2 saisons Réveil avec essoufflement ou toux plus souvent rapporté dans la saison des récoltes La fréquence de manipulation de pesticides associée à certains paramètres spirométriques lors des 2 saisons, et AChE et BChE abaissés lors de la saison des récoltes

Tableau 16.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Cherry et coll., 2018 Canada	2 426 céréaliers dans l'Alberta 2 cohortes constituées en 2002. Liens avec les données médico-administratives en 2009 (n = 1 371)	Diagnostic d'asthme auto-déclaré Vraisemblance d'un diagnostic d'asthme (estimée en liant les données du questionnaire ATS [*American Thoracic Society respiratory questionnaire*] avec les données des bases médico-administratives)	Pesticides spécifiques par questionnaire, liste de 26 insecticides et 48 herbicides et 25 traitements des semences Nombre d'années d'exposition à 7 groupes chimiques : phénoxys, organochlorés, organophosphorés, pyréthrinoïdes, carbamates, thiocarbamates, dithiocarbamates	Âge, sexe, statut (agriculteur et/ou céréalier), exposition aux pesticides au cours du dernier mois, tabac, données médico-administratives disponibles (oui/non)	Association significative entre le nombre d'années d'utilisation de composés phénoxy et le diagnostic d'asthme (OR = 1,29 ; IC 95 % [0,66-2,52], 2,52 ; IC 95 % [1,25-5,09], et 3,18 ; IC 95 % [1,54-6,58] pour une exposition courte, moyenne et longue respectivement), ou la vraisemblance d'un diagnostic d'asthme Pas d'association avec les autres groupes chimiques
Rinsky et coll., 2019 États-Unis	22 491 agriculteurs qui ont participé au suivi 2005-2010 de la cohorte prospective *AHS* Analyse transversale	Diagnostic BPCO : rapporter un diagnostic de BPCO, de bronchite chronique ou d'emphysème Symptômes de bronchite chronique : toux ou crachats ≥ 3 mois pendant 2 années consécutives	« Avez-vous appliqué des insecticides sur des animaux de ferme au cours des 12 derniers mois ? » 18 insecticides spécifiques : 9 organophosphorés, 1 carbamate, 1 organochloré, 7 pyréthrinoïdes	Âge, État, sexe, éducation, tabac (par la méthode IPEW « *Inverse probability of exposure weights* »)	Utilisation d'insecticides associée à un risque de symptôme avec (1,39 ; IC 95 % [1,08-1,78] ou sans diagnostic de BPCO (1,21 ; IC 95 % [1,05-1,38]) Diazinon associé avec les 3 évènements de santé 9 insecticides associés avec la présence de symptômes, avec ou sans diagnostic : diazinon, malathion, coumaphos, dichlorvos, carbaryl, perméthrine, pyréthrines, lindane, parathion
Sapbamrer et coll., 2019 Thaïlande	58 hommes (25-55 ans) qui pulvérisent des pesticides vus à 2 mois d'intervalle, avant (fin avril) et après (fin juin) les saisons de pulvérisation Absence de symptômes et maladies respiratoires à l'entrée dans l'étude	Spirométrie Questionnaire sur les symptômes respiratoires pendant la saison de pulvérisation	Pesticides non spécifiques Information sur le nombre de pesticides, les tâches professionnelles	Données spirométriques étudiées en % prédit (selon âge, sexe et taille)	Fréquence des symptômes respiratoires non nulle au questionnaire de suivi (de 27 % pour la toux à 7 % pour les essoufflements). Diminution significative du VEMS, de la CVF et du débit de pointe sur la période de suivi (pas de différence pour VEMS/CVF et DEM_{25-75}). La diminution du VEMS était particulièrement observée avec l'application de 2 polluants et la diminution de la CVF avec l'application de 3 polluants (mais études en sous-groupes de faibles effectifs). La diminution des paramètres de fonction ventilatoire au cours du suivi était plus élevée chez ceux qui déclaraient une toux.

Tableau 16.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Études exposés – non exposés					
Fareed et coll., 2013 Inde	166 ouvriers qui pulvérisent des pesticides sans équipements de protection *versus* 77 témoins	Spirométrie Symptômes respiratoires (questionnaire) : toux, crachats, dyspnée, sifflements, irritation de la gorge	Utilisation de pesticides organophosphorés, durée de l'exposition (nombre d'années*nombre d'heures) Biomarqueurs d'exposition : AChE et BChE dans le sang	Tabac (dans certains modèles)	Prévalence de symptômes respiratoires ($\geq$ 1) : 4 % (n = 3) chez les témoins, 37 % chez les ouvriers (OR avec des IC 95 % très larges) Chez les ouvriers, effet dose-réponse entre la durée d'exposition et $\geq$ 1 symptôme respiratoire Débit de pointe, VEMS et VEMS/CVF significativement diminués chez les ouvriers et parmi les ouvriers effet dose-réponse avec la durée de l'exposition Activité de AChE et BChE diminuées chez les exposés et BChE diminuée avec un VEMS et CVF plus faibles
Callahan et coll., 2014 Égypte	38 adolescents qui appliquent de pesticides *versus* 24 témoins suivis pendant 10 mois	Spirométrie jour 146 (après utilisation de pesticides, mais niveau de TCPy encore élevé) et jour 269 (niveau TCPy revenu à la normale) Restriction (CVF < 5^{e} percentile et ratio VEMS/CVF normal) Sifflements (questionnaire)	Dosage urinaire : TCPy, un métabolite spécifique du chlorpyrifos	Âge	Niveau de TCPy augmenté chez les exposés, et inversement associé aux mesures spirométriques au jour 146 (mais pas au jour 269) Risque de sifflements augmenté chez les exposés
Ndlovu et coll., 2014 Afrique du sud	211 femmes incluant 121 femmes agricultrices et 90 citadines (5-10 km des zones agricoles)	Symptômes respiratoires (questionnaire ECRHS) : score de symptômes d'asthme, asthme diagnostiqué, asthme actif Mesure du FeNO	Exposition rapportée par questionnaire Dosage dans le sang de l'activité des cholinestérases (AChE)	Tabac, atopie, né dans une ferme, niveau d'éducation	Chez les agricultrices, le score de symptômes d'asthme était positivement associé à différentes variables d'exposition et négativement à AChE.

Tableau 16.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Hanssen et coll., 2015 Éthiopie	213 ouvriers agricoles (fleurs) *versus* 60 témoins (employés dans des supermarchés)	Symptômes au cours des 30 derniers jours (questionnaire BMRC) : toux, crachats, essoufflement, sifflements	Comparaison des différents postes chez les ouvriers agricoles Comparaison avec les témoins	Âge, niveau d'éducation	Symptômes respiratoires augmentés chez les femmes qui coupent/désherbent *versus* les autres (statistiquement significatif pour la toux) Pas de témoins avec symptômes respiratoires
Mwanga et coll., 2016 Afrique du sud	211 femmes incluant 121 femmes agricultrices *versus* 90 citadines (5-10 km des zones agricoles)	Symptômes respiratoires (questionnaire ECRHS) Mesure du FeNO Sensibilisation allergique (test phadiatop®) Dosage de cytokines « non-Th2 » (IL-8, IL-6, IL10, IL-17, INF-γ) et « Th2 » (IL-4, IL-5, IL-13)	Métabolites urinaires des pesticides ajustés sur la créatinine urinaire : 6 métabolites des dialkylphosphates (DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP, DEDTP), TCPy, métabolites des pyréthrinoïdes (DCCA, DBCA, 4F3-PBA, 3-PBA)	Tabac, atopie, né dans une ferme, niveau d'éducation	Pas de différence sur la prévalence de l'asthme, FeNO > 50 ppb, détection de cytokines non-Th2 et Th2 selon les 2 groupes Pas d'association métabolites - asthme/FeNO chez les agricultrices Les métabolites des organophosphorés et pyréthrinoïdes étaient associés à un taux de cytokines plus élevé, et plus spécifiquement pour les cytokines non-th2.
Negatu et coll., 2017 Éthiopie	2 populations : 1 104 agriculteurs, dont 601 exposés et 503 non exposés 387 agriculteurs, dont 206 exposés et 180 non exposés	Spirométrie (pour la seconde étude) Symptômes respiratoires (questionnaire BMRC)	Estimation de l'exposition cumulée à partir de *i*) intensité de l'exposition, *ii*) utilisation de protection, *iii*) durée d'exposition	Sexe, âge, IMC (2e étude), statut tabagique, antécédent de pneumonie, salaire, statut marital, mâcher du khat	Prévalence de la toux chronique et de l'essoufflement significativement plus élevée chez les exposés que les non exposés, dans chacune des 2 études (OR estimés entre 3,1 et 6,7) VEMS, DEM_{25-75} et VEMS/CVF significativement abaissés chez les exposés *versus* non exposés Associations dose-réponse observées
Jalilian et coll., 2018 Iran	70 détaillants de pesticides *versus* 64 ouvriers du bâtiment	Symptômes respiratoires (questionnaire ECRHS) : toux, crachats, essoufflement, sifflements, oppression thoracique Marqueurs de stress oxydants (glutathion, malondialdéhyde, catalase)	Comparaison des groupes	Âge, taille, poids, niveau d'éducation, expériences professionnelles, travail quotidien, antécédents familiaux de maladies respiratoires, statut marital, statut tabagique, nombre de cigarettes/j	Les détaillants de pesticides déclaraient significativement plus de sifflements, oppression thoracique, toux et crachats et avaient des niveaux de glutathion et malondialdéhyde augmentés.

Tableau 16.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Études transversales					
Desalu et coll., 2014 Niger	228 agriculteurs	Symptômes respiratoires (questionnaire) : toux, crachats, essoufflement, sifflements, oppression thoracique, allergies nasales Mesure du débit de pointe	Utilisation de pesticides non spécifique (questionnaire)	Âge, tabac, comorbidités, utilisation de biomasse	L'utilisation de pesticides était associée à un risque augmenté de toux chronique (2,96 [1,21-7,23]), crachats chroniques (2,64 [1,12-6,24]) et essoufflement (4,28 [1,65-10,86]).
Fiori et coll., 2015 Brésil	2 469 familles de cultivateurs de tabac	Sifflements dans les 12 derniers mois évalués par questionnaire	Utilisation de pesticides (questionnaire) : nombre de jours/mois d'utilisation, nombre d'années d'utilisation de pesticides (vie)	Pas clairement précisé (âge, tabac, antécédent d'asthme...)	L'utilisation de pesticides (jours/mois) était associée à un risque de sifflements augmenté chez les hommes, avec une relation dose-réponse (RR = 2,71 ; IC 95 % [1,56-4,71]). Pas d'association chez les femmes
Quansah et coll., 2016 Ghana	300 maraîchers	Symptômes respiratoires (questionnaire) : toux chronique, crachats chroniques, sifflements, essoufflement	Questionnaire administré Dosages urinaires de métabolites des pesticides organochlorés (γ-HCH, β-HCH, δ-HCH, heptachlore, aldrine, dieldrine, endosulfan sulfate) et des pyréthrinoïdes (λ-cyhalothrine, cyperméthrine) pour 100 participants	Sexe, âge, statut marital, niveau d'éducation, tabac	Risque augmenté des crachats chroniques avec le nombre heures/jour d'utilisation de fongicides et d'insecticides Risque augmenté des sifflements avec le nombre d'heures/jour d'utilisation de fumigants, de fongicides et d'insecticides et le nombre d'années d'utilisation de fongicides (relation dose-réponse) Relation dose-réponse entre la combinaison d'activités qui exposent les maraîchers (0 à 3 ; transport, mélange et pulvérisation) et chacun des symptômes respiratoires Associations dose-réponse observées avec β-HCH, heptachlore et endosulfan sulfate Pas d'association avec les pyréthrinoïdes

Tableau 16.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Patel et coll., 2018 États-Unis	11 210 exploitants agricoles *The Farm and Ranch Safety Survey*	Asthme actif (questionnaire)	Auto-questionnaire avec question sur les pesticides spécifiques utilisés	Sexe, région	L'utilisation de pesticides (quels qu'ils soient), d'herbicides et d'insecticides était associée à un risque d'asthme actif augmenté. Pas d'association avec les produits spécifiques (tendance avec le glyphosate : OR = 1,3 [0,97-1,8])
Diaz-Criollo et coll., 2019 Colombie	217 agriculteurs	Spirométrie (VEMS, CVF, VEMS/CVF) Obstruction bronchique : VEMS/CVF < 80 % Symptômes/maladies respiratoires auto-déclarés : toux, dyspnée, sifflements, douleur thoracique, bronchite chronique, asthme	Niveau de paraquat mesuré dans les urines (SPE-HPLC) Exposition évaluée par : niveau urinaire * nombre de mois d'utilisation de pesticides au travail (MEE) Exposition aux pesticides auto-déclarée		62 pesticides déclarés : profénofos (35 %), méthamidophos (25 %), chlorpyrifos (22 %), méthomyl (14 %), chlorothalonil (13 %), mancozèbe (12 %), esbiothrin (12 %) et glyphosate (12 %). Exposition combinée à ces 8 pesticides : 46 % Obstruction bronchique (prévalence : 5 %) associée à des expositions combinées, incluant paraquat et méthamidophos Asthme (prévalence : 1 %) associé à l'exposition au paraquat
Liu et coll., 2019 Chine	5 420 agriculteurs travaillant dans des serres	Asthme : sifflements ou crise d'asthme au cours de la dernière année et VEMS/CVF < 75 % et test de réversibilité positif (VEMS post-BD > 12 % et > 200 ml de la valeur de base)	Application de pesticides non spécifiques (questionnaire)	Sexe, IMC, type de culture, temps de ventilation, odeurs, toux à l'entrée dans la serre, toux avant 14 ans	L'utilisation de plusieurs pesticides augmente significativement le risque d'asthme : OR = 1,24 ; IC 95 % [1,03-1,49].

Tableau 16.I : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Li et coll., 2019 Chine	1 366 individus travaillant dans des serres	Maladie respiratoire diagnostiquée (bronchite chronique, emphysème, asthme, autres) et symptômes respiratoires (toux ou crachats, dyspnée ou tachypnée, essoufflement ou détresse pulmonaire, hémoptysie) par questionnaires non standardisés	Questionnaire posé par un enquêteur incluant le nombre d'années d'utilisation de pesticides (non spécifiques), méthode de spray (manuelle, machine, mixte), durée moyenne d'utilisation de spray	Modèle complet ajusté sur des facteurs généraux et liés au style de vie, mais pas clairement précisé sur lesquels parmi âge, sexe, niveau d'éducation, statut marital, ethnicité, revenu de la famille, année de l'étude, tabagisme actif, tabagisme passif, consommation d'alcool, activité physique, nombre de repas par jour, prise du petit-déjeuner	Pas d'association statistiquement significative avec les maladies respiratoires (n = 49 cas) Des associations significatives et positives étaient observées avec la méthode de spray mixte *versus* manuelle, mais peu de sujets dans le groupe « mixte ». Aucune association significative quand ajustement sur le modèle complet

* : Les études épidémiologiques antérieures à 2014 sont présentées en détail dans la revue de la littérature publiée en 2015 (Mamane et coll., 2015a) et ne sont pas reprises dans ce tableau.

3-PBA : acide 3-phénoxybenzoïque ; 4F3-PBA : acide 4-fluoro-3-phénoxybenzoïque ; AChE : acétylcholinestérase ; BChE : butyrylchlolinestérase ; BD : bronchodilatation ; BMRC : *British Medical Research Council* ; CVF : capacité vitale forcée ; DBCA : acide 3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-1-carboxylique ; DCCA : acide 3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-1-carboxylique ; DMP : diméthylphosphate ; DEP : diéthylphosphate ; DMTP : diméthylthiophosphate ; DETP : diéthylthiophosphate ; DMDTP : diméthyldithiophosphate ; DEDTP : diéthyldithiophosphate ; FeNO : fraction expirée du monoxyde d'azote ; IMC : indice de masse corporelle ; LIN : limite inférieure de la normale ; MEE : matrice emploi-exposition ; TCPy : 3,5,6-trichloro-2-pyridinol ; VEMS : volume expiratoire maximal seconde

Tableau 16.II : Résultats de l'ensemble des études d'association substances spécifiques-santé respiratoire conduites dans la cohorte américaine AHS

Référence	Phénotype respiratoire	Pesticides pour lesquels une association statistiquement significative a été observée
Hoppin et coll., 2002	Sifflements 12 derniers mois chez les agriculteurs (n = 20 468)	**Herbicides** : alachlore, atrazine**, chlorimuron-éthyle, EPTC**, paraquat**, *petroleum oil*, trifluraline **Insecticides** : chlorpyrifos**, malathion, parathion**, perméthrine (élevage de poules) **Fongicides** : métalaxyl
Hoppin et coll., 2006	Sifflements 12 derniers mois chez des applicateurs industriels (n = 2 255)	Atrazine, chlorimuron-éthyle, glyphosate, imazéthapyr, métolachlore, métribuzine, pendiméthaline, chlorpyrifos, dichlorvos, fonofos, phorate, terbufos
Hoppin et coll., 2008	Asthme allergique et non allergique chez les femmes (n = 25 814)	**Asthme allergique** : 2,4-D, glyphosate, carbamates (carbaryl), coumaphos, malathion, parathion, phorate, DDT, perméthrine (animaux) ; métalaxyl **Asthme non allergique** : perméthrine (cultures)
Hoppin et coll., 2009	Asthme allergique et non allergique à début dans la vie adulte chez les hommes agriculteurs (n = 19 704)	**Asthme allergique** : 2,4,5-TP+, EPTC, paraquat, chlordane, heptachlor, lindane, coumaphos, diazinon, parathion, captane, 80/20 mix, dibromure d'éthylène **Asthme non allergique** : DDT, malathion, phorate
Henneberger et coll., 2014	Exacerbation des symptômes chez les applicateurs de pesticides asthmatiques (n = 926)	Effet protecteur du paraquat, glyphosate
Hoppin et coll., 2007	Bronchite chronique chez les agriculteurs (n = 20 908)	Carbaryl*, carbofuran*, chlordane, DDT*, heptachlor*, lindane, toxaphène, coumaphos, diazinon*, dichlorvos, malathion*, parathion, perméthrine*, 2,4,5-T*, 2,4,5-TP*, chlorimuron-éthyle*
Valcin et coll., 2007	Bronchite chronique chez les femmes non fumeuses (n = 21 541)	Dichlorvos, DDT, cyanazine, paraquat, bromure de méthyle
Hoppin et coll., 2017	Sifflements allergiques et non allergiques (n = 22 134)	**Sifflements allergiques** : dicamba, piclorame, trifluraline, glyphosate**, 2,4-D**, triclopyr, atrazine, simazine, bentazone, carbaryl**, chlorpyrifos, diméthoate, malathion, perméthrine**, pyréthrines, zeta cyperméthrine, warfarine** **Sifflements non allergiques** : clopyralid/flumétsulame, dicamba, piclorame, mésotrione, acétochlore, métolachlore, trifluraline, imazaquine, glyphosate**, fluazifop-butyl/fénoxaprop-p-éthyle, triclopyr, atrazine, nicosulfuron, malathion, cyfluthrine, perméthrine**, pyréthrines
Rinsky et coll., 2019	BPCO, bronchite chronique, BPCO+bronchite chronique (n = 22 491)	Diazinon associé avec les 3 phénotypes et perméthrine, malathion, pyréthrines, lindane, parathion, coumaphos, dichlorvos, carbaryl associés avec 1 ou 2 phénotypes

* : Association toujours significative après ajustement sur les pesticides corrélés ; ** : Effet dose-réponse rapporté

Tableau 16.III : Études épidémiologiques publiées depuis 2014 portant sur le lien entre expositions environnementales aux pesticides et la santé respiratoire*

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Études de cohortes prospectives					
Gascon et coll., 2014 Espagne	4 608 mères-enfants Méta-analyse de 10 cohortes de naissances (*ENRIECO*)	Bronchite et sifflements rapportés par les parents 6-18 mois Sifflements avant 4 ans	DDE dans le sang du cordon	Sexe, âge de l'enfant, durée de l'allaitement, âge gestationnel, nombre de frères/sœurs à la naissance, âge maternel, IMC de la mère, tabac mère pré et post-natal, niveau d'études de la mère, asthme/allergie de la mère, date de recueil de l'échantillon	Association significative avec les symptômes à 18 mois, RR [IC 95 %] pour une variation log2 DDE ng/ml : Bronchite et/ou sifflements : 1,03 [1,00-1,07] Bronchite : 1,05 [1,00-1,11] Sifflements : 1,02 [0,96-1,07] Association dose-réponse (basée sur les terciles d'exposition) Association robuste à l'ajustement sur PCB-153, pas d'hétérogénéité selon les cohortes Pas d'association avec les sifflements vie évalués à 4 ans
Hansen et coll., 2016 Danemark	414 paires mères-enfants avec des mesures prénatales d'exposition et une spirométrie au suivi à 20 ans	Spirométrie à 20 ans : obstruction bronchique (VEMS/CVF < 75 %), et fonction ventilatoire diminuée (VEMS % prédit < 90 %)	p-p'-DDE, HCB, 6 PCB (-118, -156, -138, -153, -170, -180) mesurés dans le sérum maternel pendant la grossesse	Âge maternel, parité, tabagisme pendant la grossesse, IMC avant la grossesse, niveau d'éducation, triglycérides, cholestérol, et sexe de l'enfant	Comparativement aux individus avec les plus faibles niveaux d'expositions pendant la grossesse (1er tercile d'exposition), ceux qui étaient les plus exposés (dernier tercile d'exposition) aux PCB de type dioxine, aux PCB qui ne sont pas de type dioxine, HCB et p,p'-DDE avaient un risque d'obstruction bronchique augmenté (OR = 2,96 [1,14-7,70], 2,68 [1,06-6,81], 2,63 [1,07-6,46], et 2,87 [1,09-7,57], respectivement). Pas d'association avec un niveau de VEMS diminué < 90 %

Tableau 16.III : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Perla et coll., 2015 États-Unis	2 777 enfants de 6 ans et plus pour données DAP 940 enfants ≥ 12 ans pour les données DDT Cohorte *NHANES* (1999-2008)	Asthme vie, asthme actif et sifflements actifs par questionnaires	Taux des DAP urinaires (somme des concentrations de 6 métabolites : DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP, DEDTP) p,p'-DDE	Modèle DAP : sexe, ethnicité, IMC, index de pauvreté, tabac prénatal, log(cotinine) Modèle DDT : sexe, IMC, index de pauvreté	Pas d'association significative observée Tendance non significative entre DDE et sifflements Associations plutôt négatives dans les analyses selon les groupes ethniques
Raanan et coll., 2015 États-Unis	359 enfants vus à 5 et 7 ans Cohorte de naissance *CHAMACOS*	Symptômes respiratoires (sifflements, essoufflement traitements pour asthme) et toux à l'effort rapportés à 5 et 7 ans	6 métabolites urinaires des OP (3 DEP et 3 DMP) mesurés 2 fois pendant la grossesse (0-20 ; 21-40 semaines) et 5 fois chez l'enfant (0,5-5 ans)	Sexe, tabac maternel grossesse, tabac passif première année de vie, saison de naissance, concentration moyenne de $PM_{2,5}$ sur les 3 premiers mois de vie, moisissures dans l'habitat, proximité d'une autoroute, présence de blattes dans la maison	Association significative DAP total et DEP mesurée lors de la seconde moitié de grossesse et les symptômes respiratoires (log-10 DAP total, OR = 1,77 ; IC 95 % [1,06-2,95]) Associations « fortes » observées avec l'exposition dans l'enfance et DAP total, DEP et DMP ; OR [IC 95 %] pour DAP total : Symptômes respiratoires : 2,53 [1,32-4,86] Toux à l'effort : 5,40 [2,10-13,91]
Raanan et coll., 2016 États-Unis	279 enfants Cohorte de naissance *CHAMACOS*	Spirométrie à 7 ans	6 métabolites urinaires des OP (3 DEP et 3 DMP) mesurés 2 fois pendant la grossesse (0-20 ; 21-40 semaines) et 5 fois chez l'enfant (0,5-5 ans)	Sexe, âge, taille, animaux domestiques, score d'insécurité alimentaire, niveau d'éducation mère, saison de la spirométrie, technicien, tabac grossesse mère, saison de naissance, concentration moyenne de $PM_{2,5}$ sur les 3 premiers mois de vie, durée allaitement, moisissures dans l'habitat, distance à une autoroute	Pas d'association entre les expositions maternelles pendant la grossesse et les paramètres de fonction respiratoire Association négative entre les expositions dans l'enfance et le VEMS (log-10 total DAP, OR = -0,16 ; IC 95 % [-0,30 ; -0,02]) et la CVF (log-10 total DAP, OR = -0,17 ; IC 95 % [-0,34 ; -0,01]). Pas d'associations avec DEM_{25-75}

Tableau 16.III : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Raanan et coll., 2017 États-Unis	237 enfants Cohorte de naissance *CHAMACOS*	Spirométrie à 7 ans Symptômes respiratoires (sifflements, essoufflement ou traitement pour asthme) à 7 ans Traitements pour asthme à 7 ans	Modèles SIG- Quantité de soufre élémentaire (kg) utilisé pour l'agriculture dans un rayon de 0,5/1/3 km Exposition pré- et post-natale	Modèles symptômes/traitement : tabac de la mère, saison de naissance, moisissures dans l'habitat, mesures urinaires des métabolites des pesticides organophosphorés (DAP) Modèle paramètres de spirométrie : âge, taille, sexe de l'enfant, tabac mère grossesse, saison de naissance, concentration moyenne de $PM_{2.5}$ sur les 3 premiers mois de vie, durée de l'allaitement, moisissures dans l'habitat, distance à une autoroute, animaux domestiques, mesures urinaires des métabolites des pesticides organophosphorés (DAP), insécurité alimentaire du foyer, nez qui coule sans rhume à 5 ans, nez qui coule sans rhume à 5 ans et soufre < 1 km, saison de la spirométrie, technicien	Association significative de l'exposition au soufre (augmentation par un facteur 10) avec un risque augmenté de symptômes/traitements, OR [IC 95 %] dans un rayon de < 0,5 km/< 1 km : Symptômes respiratoires, 1,71 [1,14 ; 2,57] / 2,09 [1,27 ; 2,36] Traitements pour asthme, 2,23 [1,19 ; 4,21] / 3,51 [1,50 ; 3,23] Association significative de l'exposition au soufre (augmentation par un facteur 10) avec une fonction respiratoire diminuée, β (IC 95 %) : VEMS : -0,14 [-0,25 ; -0,04] CVF : -0,13 [-0,3 ; -0,02] DEM_{25-75} : -0,16 [-0,34 ; -0,00]

Tableau 16.III : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Balte et coll., 2017 Allemagne	344 enfants vus à 8 et/ou 9 ans et à 10 ans (971 observations) Cohorte d'enfants (8 ans au recrutement)	1-3 spirométries par enfant VEMS, CVF, VEMS/CVF	Concentration DDE dans le sang à 8 ou 10 ans	Antécédent personnel d'asthme, asthme mère, asthme père, durée de l'allaitement, tabac grossesse	Pas d'association entre la concentration de DDE et paramètres spirométriques dans le modèle pour données répétées Effet direct de la concentration de DDE sur taille et poids, mais pas sur la fonction respiratoire. Effet indirect de la concentration de DDE sur la fonction respiratoire, médiée par l'effet de DDE sur la taille et le poids
Gunier et coll., 2018 États-Unis	294 enfants Cohorte de naissance *CHAMACOS*	Spirométrie à 7 ans Symptômes respiratoires (sifflements, essoufflement) et traitements pour asthme	Modèles SIG- Proximité résidence (8 km) aux traitements agricoles par fumigation (*Pesticide Use Report data*) bromure de méthyle, chloropicrine, métham sodium et 1,3-dichloropropène Exposition pré- et post-natale	Modèles symptômes/traitement : tabac de la mère, saison de naissance, moisissures dans l'habitat, allergie (nez qui coule sans rhume) Modèle paramètres de spirométrie : ajustement supplémentaire sur âge, taille, sexe de l'enfant	Pas d'association avec les symptômes /traitements Association positive entre l'exposition prénatale au bromure méthyle et le VEMS (0,06 [0,00-0,12]), DEM_{25-75} (0,15 [0,03-0,27])
Raherison et coll., 2019 France	282 enfants 3-10 ans en milieu viticole (1/4 habitaient dans une ferme) Cohorte, avec 2 périodes de suivi : l'hiver (peu de pesticides dans l'air) et l'été (période de traitement des vignes)	Spirométrie : débit de pointe et VEMS Asthme (diagnostic par un médecin) Symptômes d'asthme Score de symptômes (asthme ; rhinite ; asthme + rhinite)	56 pesticides mesurés dans l'air 1 semaine sur chaque période → Index d'exposition cumulatif Biomarqueur urinaire d'exposition au fongicide dithiocarbamates (éthylène thiourée, ETU (µg/g créatinine, n = 96)	Sexe, âge, niveau d'éducation père et mère, atopie, tabac passif, bronchiolite, animaux domestiques, habiter dans une ferme, utilisation domestique de pesticides, exposition professionnelle aux pesticides, indice de la qualité de l'air, température, score de symptômes à la phase I (hiver)	Pas d'association entre les concentrations de pesticides dans l'air et les scores de symptômes (n = 177) Association positive et significative entre ETU et le score total de symptômes (n = 66, OR = 3,56 ; IC 95 % [1,04-12,12]) Pas d'association avec les paramètres de fonction respiratoire

Tableau 16.III : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Kim et coll., 2019 Corée	559 adultes (âge moyen 75 ans ; 117 hommes) habitants de Séoul Jusqu'à 3 visites à environ 1 an d'intervalle entre 2 visites (1 198 observations) Cohorte	1-3 spirométries par sujet VEMS, CVF, VEMS/CVF, DEM_{25-75}	1-3 dosages urinaires d'un métabolite des pyréthrinoïdes (3-PBA) par enfant (ICC_{total} = 0,76 mais variabilité importante selon la concentration : $ICC_{élevé}$ = 0,78 ICC_{faible} = 0)	Âge, sexe, IMC, tabac, niveau de diplôme, numéro de visite, sommes des métabolites des phtalates	Associations transversales négatives, β [IC 95 %] pour une variation ln(3-BPA) : VEMS (-1,48 [-2,19 ; -0,78], CVF (-1,14 [-1,82 ; -0,46]), DEM_{25-75}. (-1,11 [-2,14 ; -0,09]) Pas d'association sur le déclin de la fonction
Benka-Coker et coll., 2019 États-Unis	16 enfants (6-16 ans) asthmatiques Données répétées à intervalle de 6 jours pendant 4 mois (139 observations) *The Aggravating Factors of Asthma in a Rural Environment (AFARE) study*	Dosage urinaire des leucotriènes E4 (uLTE4), marqueur d'inflammation	Métabolites urinaires des OP (DAP total, DMP total, DEP total) ajustés sur la créatinine	Âge, atopie, utilisation de corticoïdes inhalés, température maximale et vitesse du vent	Association positive significative entre la concentration uLTE4 et DAP total, DMP total et DEP total
Abellan et coll., 2019 Espagne	2 308 paires mères-enfants, cohorte INMA	Spirométrie à 4 ans (n = 636) et 7 ans (n = 1 192) 520 enfants avec spirométrie à 4 et 7 ans	p,p'-DDE, HCB, PCB-138, PCN-153, PCB-180 et somme des PCB mesurés dans le sang maternel ou le sang du cordon	Âge maternel à la naissance, IMC de la mère avant la grossesse, niveau d'éducation de la mère, CSP de la mère, pays de naissance de la mère, parité, consommation d'alcool et tabac pendant la grossesse, nutrition de la mère, région d'habitation, et âge, sexe et taille de l'enfant à la visite	Une concentration augmentée à p,p'-DDE était associée à un VEMS et une CVF diminués : statistiquement significatif à 4 ans et 7 ans, mais pas de relation dose-réponse et à 7 ans seulement pour des niveaux d'exposition médians. Même tendance pour HCB et VEMS et CVF à 7 ans. Pas d'association observée avec les PCB

Tableau 16.III : (suite)

Référence Pays	Population étudiée *Design* d'étude	Définition de l'évènement de santé	Méthode et définition de l'exposition aux pesticides	Facteurs d'ajustement	Résultats
Études de cas-témoins					
Meng et coll., 2016 Chine	620 cas asthmatiques 218 témoins Enfants recrutés en 2013/14	Asthme diagnostiqué par un médecin	Pesticides organochlorés dosés dans des pools de sérum (5 cas/2 témoins) (3 HCH ; heptachlore ; DDT, DDE, DDD)	Sexe, PCB total, BDE total	Risque d'asthme augmenté avec HCH (1 ng/g lipide, OR = 1,06 ; IC 95 % [1,02-1,10]) et p,p'-DDE (1 ng/g lipide, OR = 1,02 ; IC 95 % [1,01-1,03]) Pas d'association positive avec l'asthme sévère, mais 2 associations négatives (p,p'-DDD et o,p'-DDT)
Études transversales					
Ye et coll., 2015 Canada	1 696 participants à l'étude *Canadian Health Measures Survey* âgés de 20 à 79 ans	Spirométrie : VEMS, CVF, VEMS/CVF, DEM_{25-75}	p,p'-DDT (traitée en variable binaire : > limite de détection oui/non) et p,p'-DDE (traitée en variable continue) mesurés dans la plasma	Âge, sexe, ethnicité, taille, tabac et dépenses énergétiques quotidiennes (variables sélectionnées parmi un plus large nombre de facteurs étudiés)	p,p'-DDT et p,p'-DDE étaient significativement associés à un VEMS et une CVF diminués (β [IC 95 %] pour une augmentation de 10 ng/g lipide de p,p'-DDE = -11,8 [-20,6 ; -3,1] et -18,8 [-28,7 ; -8,9] respectivement). Pas de relation avec VEMS/CVF et DEM_{25-75}

* : Les études épidémiologiques antérieures à 2014 sont présentées en détail dans une revue de la littérature (Mamane et coll., 2015a) et ne sont pas reprises dans ce tableau.

3-PBA : l'acide 3-phénoxybenzoïque ; 4F3-PBA : acide 4-fluoro-3-phénoxybenzoïque ; AChE : acétylcholinestérase ; BChE : butyrylchlolinestérase ; CVF : capacité vitale forcée ; DAP : dialkyl phosphate ; DBCA : acide 3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-1-carboxylique ; DCCA : acide 3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-1-carboxylique ; DDD : dichlorodiphényldichloroéthane ; DDE : dichlorodiphényldichloroéthylène ; DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane ; DMP : diméthylphosphate ; DEP : diéthylphosphate ; DMTP : diméthylthiophosphate ; DETP : diéthylthiophosphate ; DMDTP : diméthyldithiophosphate ; DEDTP : diéthyldithiophosphate ; FeNO : fraction expirée du monoxyde d'azote ; HCB : hexachlorobenzène ; ICC : *intraclass correlation coefficient* ; IMC : indice de masse corporelle ; LIN : limite inférieure de la normale ; MEE : matrice emploi-exposition ; TCPy : 3,5,6-trichloro-2-pyridinol ; VEMS : volume expiratoire maximal seconde.

Tableau 16.IV : Présomption d'un lien entre exposition aux pesticides et pathologies respiratoires

Exposition/populations	Effets	Présomption d'un lien
Exposition professionnelle aux pesticides (sans distinction)	Fonction respiratoire Asthme, sifflements BPCO, bronchite chronique	+ + ++
Exposition environnementale aux pesticides au domicile (proximité, usages domestiques)	Fonction respiratoire Asthme, sifflements BPCO, bronchite chronique	± + Absence d'études rigoureuses

++ d'après les résultats d'une méta-analyse
+ d'après les résultats de plusieurs études dont au moins une grande cohorte
± d'après les résultats de plusieurs études mais pas d'étude de cohorte

Tableau 16.V : Familles et substances actives impliquées dans les excès de risque d'altération de la santé respiratoire

Exposition	Populations	Présomption d'un lien		
		Fonction respiratoire	Asthme, sifflements	Bronchite chronique, BPCO
Insecticides				
Carbamates/Dithiocarbamates	Milieu agricole		± [1,2]	
Carbaryl	Agriculteurs		± [3,4]	± [5,6]
Organophosphorés	Population générale		± [7-9]	
Chlorpyrifos	Agriculteurs	± [10]	± [4,11,12]	
Coumaphos	Agriculteurs		± [3,13]	± [5,6]
Diazinon	Agriculteurs		± [12]	± [5,6]
Dichlorvos	Agriculteurs		± [12]	± [5,6,14]
Malathion	Agriculteurs		± [3,4,11,13]	± [5,6]
Parathion	Agriculteurs		± [3,11,13]	± [5,6]
Organochlorés	Population générale	± [15]		
DDT	Agriculteurs		± [3,13]	± [5,14]
	Population générale	+ [16-18]	+ [9,19-21]	
Heptachlor	Agriculteurs		± [13,20]	± [5]
Hexachlorocyclohexane (HCH)	Agriculteurs		± (lindane) [13,20]	± (lindane) [5,6]
Pyréthrinoïdes		± [22]		
Perméthrine	Agriculteurs		± [3,4,11]	± [5,6]
Herbicides				
Triazine				
Atrazine	Agriculteurs		± [4,11,12]	
Sulfonylurée				
Chlorimuron-éthyle	Agriculteurs		± [11,12]	± [5]
Bipyrymidine				
Paraquat	Agriculteurs	± [23]	+ [11,13,24,25]	± [5]
Phénoxyherbicides			± [26,27]	± [27]
2,4-D	Agriculteurs		± [3,4]	
2,4,5-T	Agriculteurs		± [13]	± [5]
Aminophosphonate glycine				
Glyphosate	Agriculteurs		± [3,4,12]	

1. Senthilselvan et coll., 1992 ; 2. Raherison et coll., 2019 ; 3. Hoppin et coll., 2017 ; 4. Hoppin et coll., 2008 ; 5. Rinsky et coll., 2019 ; 6. Hoppin et coll., 2007 ; 7. Perla et coll., 2015 ; 8. Raanan et coll., 2016 ; 9. Raanan et coll., 2015 ; 10. Callahan et coll., 2014 ; 11. Hoppin et coll., 2006 ; 12. Hoppin et coll., 2002 ; 13. Hoppin et coll., 2009 ; 14. Valcin et coll., 2007 ; 15. Benka-Coker et coll., 2019 ; 16. Ye et coll., 2015 ; 17. Abellan et coll., 2019 ; 18. Hanssen et coll., 2015 ; 19. Balte et coll., 2017 ; 20. Meng et coll., 2016 ; 21. Gascon et coll., 2014 ; 22. Kim et coll., 2019 ; 23. Cha et coll., 2012 ; 24. Schenker et coll., 2004 ; 25. Castro-Gutiérrez et coll., 1997 ; 26. Kang et coll., 2006 ; 27. Cherry et coll., 2018

++ d'après les résultats d'une méta-analyse de très bonne qualité et convergence avec les résultats des études publiées depuis la méta-analyse

+ d'après les résultats qui ont été rapportés dans au moins 2 études indépendantes de bonne qualité (2 études conduites sur la même cohorte, comme l'AHS, ne sont pas considérées comme indépendantes)

± d'après les résultats rapportés dans une seule étude (ou plusieurs études conduites sur une même cohorte)

Les substances rapportées dans ce tableau ont été définies à partir de l'ensemble des résultats de la littérature épidémiologique des associations entre pesticides et santé respiratoire (pas seulement dans la littérature récente). En ce qui concerne les résultats de la cohorte AHS, toutes les substances associées avec au moins un phénotype respiratoire sont rapportées dans le tableau 16.II, et ne sont reportées dans ce tableau que les substances identifiées dans au moins 3 études AHS sur la santé respiratoire (ou associées avec au moins 3 phénotypes respiratoires distincts), les substances pour lesquelles il y a donc une cohérence interne pour les associations observées.

Tableau 16.VI : Caractéristiques des 17 pesticides potentiellement impliqués dans les pathologies pulmonaires obstructives sélectionnés à partir des résultats épidémiologiques

Composé	Famille chimique	Carcinogenèse	Usage agricole autorisé*	Irritant	Stress oxydant	Mitotoxicité	Immunomodulation
Insecticides							
Carbaryl	Carb	Circ 3	non	H315	x		
Chlorpyrifos	OP		non	non**	x	x	x
Coumaphos	OP		non		x		
Diazinon	OP	Circ 2A	non	H315	x		x
Dichlorvos	OP	Circ 2B	non	H317	x		
Malathion	OP	Circ 2A	oui	H317	x	x	
Parathion	OP	Circ 2B	non		x		x
DDT	OC	Circ 2A	non		x	x	
Heptachlor	OC	Circ 2B	non		x		
Hexachlorocyclo-hexane (HCH)	OC	Circ 1	non		x	x	
Perméthrine	Pyr	Circ 3	non	H317	x	x	x
Herbicides							
Atrazine	Triazine	Circ 3	non	H317	x	x	
Chlorimuron-éthyle	Sulfonylurée		non	H315	x		
Glyphosate		Circ 2A	oui		x	x	
Paraquat	Bipyrymidine		non	H335 H315	x	x	
2,4-D	Dérivé phénoxy		oui	H317 H335	x		x
2,4,5-T	Dérivé phénoxy		non	H315 H335	x		

* : Autorisé pour une utilisation en agriculture en France en 2020 (https://ephy.anses.fr, consulté en mars 2020) ; ** chlorpyrifos méthyl est classé H317 ; Carb : carbamates ; Pyr : pyréthrinoïdes ; OC : organochlorés ; OP : organophosphorés

Tableau 16.VII : Caractéristiques des 7 pesticides sélectionnés sur des critères moins restrictifs

Composé	Famille chimique	Carcinogenèse	Usage agricole autorisé*	Irritant	Stress oxydant	Mitotoxicité	Immuno-modulation
Insecticides							
Carbofuran	Carb		non		x	x	
Cyfluthrine	Pyr		non**		x		x
Cyperméthrine	Pyr		oui	H335 H315 H317	x		
Herbicides							
Pendiméthaline	Dinitroaniline		oui	H317	x		
Fongicides							
Captafol	Phtalimides	Circ 2A	non	H317	x		
Chlorothalonil	OC	Circ 2B	non	H317 H335	x		x
Fluaziname	Pyridinamine		oui	H317 H315		x	

* : Autorisé pour une utilisation en agriculture en France en 2020 (https://ephy.anses.fr, consulté en mars 2020) ; ** mais oui β-cyfluthrine ; Carb : carbamate ; Pyr : pyréthrinoïde ; OC : organochloré

Tableau 16.VIII : Caractéristiques des 6 pesticides sélectionnés sur leur mécanisme d'action

Pesticide	Famille chimique	Carcinogenèse	Usage agricole autorisé*	Irritant	Stress oxydant	Mitotoxicité	Immunomodulation
Insecticides							
Deltaméthrine	Pyr	Circ 3	oui				x
Méthoxychlore	OC	Circ 3	non				x
Indoxacarbe	Oxadiazine		oui	H317			x
Imidaclopride	Nitroguanidine		oui				x
Fipronil	Phénypyrazole		non				x
Fongicides							
Mancozèbe	Dithiocarbamate		oui	H317			x
Coformulants							
PBO		Circ 3	-**				x

* : Autorisé pour une utilisation en agriculture en France, https://ephy.anses.fr (consulté en mars 2020) ; ** : certaines formulations commerciales contiennent ce coformulant ; Pyr : pyréthrinoïde ; OC : organochloré

Tableau 16.IX : Effets toxiques et pesticides : stress oxydatif, mitotoxicité et immunotoxicité

Composés	Effets	Modèles	Références
STRESS OXYDATIF – production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS)			
DDT	↑ H_2O_2	Poisson (*H. malabaricus*)-hépatocytes *in vitro*	Filipak Neto et coll., 2008
Dieldrine	↑ ROS	PC12 (lignée dopaminergique) THP1 (lignée monocyte humain)	Kitazawa et coll., 2001 Mangum et coll., 2015
Heptachlore	↑ ROS	HaCaT (lignée kératinocytes humains)	Ledirac et coll., 2005
Pendiméthaline	↑ ROS	V79 (lignée fibroblaste hamster), PBMC humains	Sarıgöl Kılıç et coll., 2018
STRESS OXYDATIF – systèmes de défense			
Atrazine	↑ SOD, GPx, GR ↓ CAT	Poisson (*D. rerio*)	Blahová et coll., 2013
	↑ Bax, Caspase 3, Nrf2 ↓ Bcl2 (rein)	Caille	Zhang et coll., 2018
	↑ Nrf2, HO-1, NQO1, CAT, SOD, GPx (rein)	Rat (28 jours)	Liu et coll., 2014
Carbaryl	↓ GSH ↑ GST, CAT (foie, rein)	Poisson (*O. mykiss*)	Ferrari et coll., 2007
Carbofuran	↓ CAT, SOD, GSH, GST, LPO (tous tissus)	Poisson (*C. gariepinus*)	Ibrahim et Harabawy, 2014
Chlorothalonil	↑ CAT, SOD, GPx, GR (branchies)	Huitre et moule	Haque et coll., 2019
Chlorpyrifos	↓ CAT, SOD, GR (tissu viscéral)	Poisson (*G. affinis*)	Kavitha et Rao, 2008
Coumaphos	↑ CAT, SOD, GST, GSH, LPO	Algue (*Ulva pertusa*)	Schweikert et Burritt, 2012
Cyfluthrine	↑ BNIP3, AKT1, p53, APAF1, NF-κB1, TNFα et Nrf2	SH-SY5Y (lignée neuroblastome)	Martínez et coll., 2019
β-Cyfluthrine	↑ LPO ↓ CAT, SOD, GPx (foie)	Souris (*per os*)	Verma et coll., 2016
α-Cyperméthrine	↓ CAT, SOD, GSH, HO-1, iNOS, NF-κB (poumon), NO, IL-1β, TNFα (sérum)	Rat (*per os*)	Arafa et coll., 2015
DDT	↑ CAT ↓ GST, SOD, GSH	Poisson (*H. malabaricus*)-hépatocytes *in vitro*	Filipak Neto et coll., 2008
2,4,5-T	↓ GST, SOD, GSH	Erythrocytes	Bukowska, 2004
HCH	↑ LPO ↓ CAT, SOD	Cellules d'ascites d'Ehrlich	Srivastava et Shivanandappa, 2006

Tableau 16.IX : (suite)

Composés	Effets	Modèles	Références
HCH	↑ GSH, GST, GPx, GR	CHO-K1	García-Fernández et coll., 2002
Diazinon	↑ SOD, GPx (branchies)	Poisson (*C. carpio*)	Oruç et Usta, 2007
	↓ GSH, CAT, GST (poumon)	Lapin (*per os*)	Hernandez-Moreno et coll., 2018
Glyphosate	↑ LPO	HepG2 (lignée hépatocarcinome)	Kaúba et coll., 2017
Malathion	↓ SOD, CAT, GSH	PC12 (phéochromocytome rat)	Lu et coll., 2012
	↑ SOD, CAT (hippocampe)	Rat	Fortunato et coll., 2006
Paraquat	↑ XO ↓ SOD (poumon)	Rat	Ahmed et coll., 2019
STRESS OXYDATIF – oxydation des macromolécules et dérivés			
Atrazine	↑ NO, MDA (rein)	Rat (28 jours)	Liu et coll., 2014
Captane	↑ Cassures ADN (*comet assay*, γH2AX et 53BP1 foci)	HeLa (lignée humaine), AA8 (lignée rongeur)	Fernandez-Vidal et coll., 2019
Chlorimuron-éthyle	↑ MDA ↓ SOD (feuilles et racines)	Blé	Wang et Zhou, 2006
Chlorothalonil	↑ MDA (branchies)	Huitre et moule	Haque et coll., 2019
	↑ CA, MN, cassures ADN	PBMC humains	Santovito et coll., 2018
Chlorpyrifos	↑ MDA, LPO	Poisson (*G. affinis*)	Kavitha et Rao, 2008
	↑ Cassures ADN (*comet assay*) (tissus : foie, cerveau, rein, rate)	Rat	Ojha et coll., 2013
	↑ LPO (foie, cerveau), cassures ADN (élution) (foie, cerveau et PC12)	Rat et lignée PC-12 lignée phéochromocytome de la surrénale)	Bagchi et coll., 1995
Cyfluthrine	↑ MDA, NO ↓ NQO-1	SH-SY5Y (lignée neuroblastome humain) *in vitro*	Martínez et coll., 2019
β-Cyfluthrine	↑ CA, cassures ADN (moelle osseuse)	Souris	Verma et coll., 2016
α-Cyperméthrine	↑ MDA (poumon)	Rat (*per os*)	Arafa et coll., 2015
2,4-D	↑ Cassures ADN (*comet assay*)	Poisson (*C. decemmaculatus*)	Ruiz de Arcaute et coll., 2018
Diazinon	↑ MDA (poumon)	Lapin (*per os*)	Hernandez-Moreno et coll., 2018
Dichlorvos	↑ MDA (plasma) ↓ CAT (hématie)	Rat	Yarsan et Cakir, 2006
Glyphosate	↑ Cassures ADN (*comet assay*)	PBMC humains	Kwiatkowska et coll., 2017
	↑ Cassures ADN (*comet assay*)	HepG2 (lignée hépatocarcinome)	Kašuba et coll., 2017

Tableau 16.IX : (suite)

Composés	Effets	Modèles	Références
RoundUp 360+, glyphosate, AMPA	↑ Cassures ADN (*comet assay*) Roundup > glyphosate > AMPA	PBMC humains	Woźniak et coll., 2018
Malathion	↑ MDA	PC12 (phéochromocytome rat)	Lu et coll., 2012
	↑ Cassures ADN (*comet assay*) (tissus : foie, cerveau, rein, rate)	Rat	Ojha et coll., 2013
Parathion-méthyl	↑ Cassures ADN (*comet assay*) (tissus : foie, cerveau, rein, rate)	Rat	Ojha et coll., 2013
Paraquat	↑ MDA (poumon)	Rat	Ahmed et coll., 2019
Pendiméthaline	↑ Cassures ADN (*comet assay*), MN	V79 (lignée fibroblaste hamster), PBMC humains	Sarıgöl Kılıç et coll., 2018
Perméthrine	↑ Cassure ADN (striatum)	Rat	Falcioni et coll., 2010
MITOTOXICITÉ – dysfonctionnement mitochondrial			
Atrazine	Malformations et dégénérescence mitochondriales	Caille	Fang et coll., 2018
Carbofuran	↓ Activité chaîne respiratoire ↑ SDH, LPO (cerveau)	Rat	Kamboj et coll., 2008
Chlorothalonil	↑ IL-1β, IL-6, TNFα, IFNγ, caspase 1, 3 et 8 et ↑ prolifération cellulaire	RAW 264.7 lignée macrophage murin	Weis et coll., 2019
Chlorpyrifos	↓ Énergie perturbation métabolisme des acides gras	Rat	Wang et coll., 2009
	Hyperréactivité bronchique	Rat	Shaffo et coll., 2018a
	↓ IFN-γ, IL-4, IL-13	PBMC humains (traités PHA)	Oostingh et coll., 2009
Cyfluthrine	↑ Bax, Bcl-2, Casp-3, BNIP3, AKT1, p53, APAF1, NFκB1, TNFα et Nrf2	SH-SY5Y (lignée neuroblastome humain) *in vitro*	Martínez et coll., 2019
DDT	↑ Voie NF-κB/FasL et apoptose dépendant de la production de ROS	HL-7702 (cellules foie humain)	Jin et coll., 2014
β-HCH	↓ β-oxydation, perturbation TCA, métabolisme acides gras	HepG2	Liu et coll., 2017
2,4-D	LLNA *assay* (positive) ↑ IGE, IL-2, TNFα, INFγ, MCP-1, MIP-1b	Souris	Fukuyama et coll., 2009

Tableau 16.IX : (suite)

Composés	Effets	Modèles	Références
Diazinon	↑ TNF-α, IL6, CD40, CD86, MHC class II mais ↓ phagocytose	RAW 264.7 lignée macrophage murin	Ogasawara et coll., 2017
	↑ TNFα, IL6 macrophages BAL	Souris	Ogasawara et coll., 2017
	↓ IFNγ, IL-4, IL-13	PBMC humains (traités PHA)	Oostingh et coll., 2009
Dieldrine	↑ NOX, p47phox, cPLA2, Ca^{2+} et stress kinases (JNK, ERK, p38MAPK)	THP1 (lignée monocyte humain)	Mangum et coll., 2015
Fluaziname	↓ Énergie, agent découplant	Poisson (*D. rerio*)	Wang et coll., 2018
IMMUNOTOXICITÉ – inflammation et signalisation			
Glyphosate	Dysfonctionnement ↓ ROS	*C. elegans*	Bailey et coll., 2018
Imidaclopride	Modifications histopathologiques poumon (inflammation) ↑ ARNm TNFα	Souris	Pandit et coll., 2016
Malathion	↑ Formation $O2^{o}$- inhibition complexe IV (hippocampe et striatum)	Rat	Delgado et coll., 2006
Mancozèbe	↑ IL-1β, IL-6, TNF-α, IFN-γ, caspase 1, 3 et 8 ↑ prolifération cellulaire	RAW 264.7 lignée macrophage murin	Weis et coll., 2019
Méthoxychlore	↑ IGE, INFγ, TNF, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-17A	Souris	Nishino et coll., 2013
	Dégranulation des mastocytes ↑ réaction allergique de type immédiat	RBL-2H3 (lignée humaine de mastocytes), mastocytes isolés de moelle osseuse de souris	Yasunaga et coll., 2015
Paraquat	↑ MMP9, IL-8, VEGF, COX-2 (poumon)	Rat	Ahmed et coll., 2019
Parathion	↑ IGE, INFγ, TNF, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IL-17A	Souris	Nishino et coll., 2013
	↑ TNF-α dans macrophages du BAL	Cochon d'Inde	Proskocil et coll., 2013
Perméthrine	Inhibition du complexe I (striatum)	Rat	Falcioni et coll., 2010
	↑ $O2^{o}$-, MPO	Neutrophiles *in vitro* (rat)	Gabbianelli et coll., 2009
Butoxyde de pipéronyle	↑ IGE, INFγ, TNF, IL-6, IL-13	Souris	Nishino et coll., 2013

AKT1 : *Ak strain transforming* = RAC-*alpha serine/threonine-protein kinase* ; AMPA : *aminomethylphosphonic acid* ; APAF1 : *apoptotic protease activating factor 1* ; BAL : *bronchoalveolar lavage* ; Bax : *Bcl-2-associated protein X* ; Bcl2 : *B-cell lymphoma 2* ;

BNIP3 : *BCL2 Interacting Protein 3* ; CA : *chromosome aberration* ; CAT : *catalase* ; CD40 : *Cluster of differentiation 40* ; COX-2 : *cyclooxygenase-2* ; cPLA2 : *cytosolic phospholipase A2* ; ERK : *extracellular signal-regulated kinases* ; GPx : *glutathione peroxidase* ; GR : *glutathione reductase* ; GSH : *glutathione* ; GST : *glutathione S-transferase* ; γH2AX : *phophorylated variant of H2A histone* ; HO-1 : *heme oxigenase-1* ; IL-1β : *interleukin 1 beta* ; IFNγ : *interferon gamma* ; JNK : *c-Jun N-terminal kinase* ; LLNA assay : *local lymph node assay* ; LPO : *lipid peroxidase* ; MCP-1 : *monocyte chemoattractant protein 1* ; MDA : *malondialdehyde* ; MHC : *major histocompatibility complex* ; MIP-1b : *macrophage inflammatory protein-1β ou CCL4* ; MN : *micronucleus* ; iNOS : *nitric oxide synthases* ; MMP9 : *matrix metallopeptidase 9* ; MPO : *myeloperoxidase* ; NQO1 : *NAD(P)H dehydrogenase [quinone] 1* ; NF-κB1 : *nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit* ; Nrf2 : *nuclear factor erythroid-2-related factor 2* ; p38MAPK : *P38 mitogen-activated protein kinase* ; p47phox : *sub-unit of neutrophil NADPH oxidase = neutrophil cytosol factor 1* ; PC12 : *pheochromocytoma cell line of the rat adrenal medulla* ; ROS : *reactive oxygen species* ; SDH : *succinate dehydrogenase* ; SOD : *superoxide dismutase* ; TCA : *tricarboxylic acid cycle = Krebs cycle* ; TNFα : *tumor necrosis factor* ; VEGF : *vascular endothelial growth factor* ; XO : *xanthine oxidase* ; 53BP1 : *p53-binding protein 1.*

RÉFÉRENCES

Abellan A, Sunyer J, Garcia-Esteban R, *et al.* Prenatal exposure to organochlorine compounds and lung function during childhood. *Environ Int* 2019 ; 131 : 105049.

Ahmed MAE, El Morsy EM, Ahmed AAE. Protective effects of febuxostat against paraquat-induced lung toxicity in rats: Impact on RAGE/PI3K/Akt pathway and downstream inflammatory cascades. *Life Sci* 2019 ; 221 : 56-64.

Alif SM, Dharmage SC, Benke G, *et al.* Occupational exposure to pesticides are associated with fixed airflow obstruction in middle-age. *Thorax* 2017 ; 72 : 990-7.

American Thoracic Society. Respiratory health hazards in agriculture. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 ; 158 : S1-S76.

Arafa MH, Mohamed DA, Atteia HH. Ameliorative effect of N-acetyl cysteine on alpha-cypermethrin-induced pulmonary toxicity in male rats. *Environ Toxicol* 2015 ; 30 : 26-43.

Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, *et al.* In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology* 1995 ; 104 : 129-40.

Bailey DC, Todt CE, Burchfield SL, *et al.* Chronic exposure to a glyphosate-containing pesticide leads to mitochondrial dysfunction and increased reactive oxygen species production in Caenorhabditis elegans. *Environ Toxicol Pharmacol* 2018 ; 57 : 46-52.

Baldi I, Robert C, Piantoni F, *et al.* Agricultural exposure and asthma risk in the AGRICAN French cohort. *Int J Hyg Environ Health* 2014 ; 217 : 435-42.

Balte PP, Kühr J, Kruse H, *et al.* Body burden of dichlorodiphenyl dichloroethene (DDE) and childhood pulmonary function. *Int J Environ Res Public Health* 2017 ; 14.

Banks CN, Lein PJ. A review of experimental evidence linking neurotoxic organophosphorus compounds and inflammation. *Neurotoxicology* 2012 ; 33 : 575-84.

Banks D, Soliman MRI. Protective effects of antioxidants against benomyl-induced lipid peroxidation and glutathione depletion in rats. *Toxicology* 1997 ; 116 : 177-81.

Benka-Coker W, Loftus C, Karr C, *et al.* Association of organophosphate pesticide

exposure and a marker of asthma morbidity in an agricultural community. *J Agromedicine* 2019 : 1-9.

Blahová J, Plhalová L, Hostovský M, *et al*. Oxidative stress responses in zebrafish Danio rerio after subchronic exposure to atrazine. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 61 : 82-5.

Braun-Fahrländer C, Gassner M, Grize L, *et al*. Prevalence of hay fever and allergic sensitization in farmer's children and their peers living in the same rural community. SCARPOL team. Swiss Study on Childhood Allergy and Respiratory Symptoms with Respect to Air Pollution. *Clin Exp Allergy* 1999 ; 29 : 28-34.

Bryant DH. Asthma due to insecticide sensitivity. *Aust N Z J Med* 1985 ; 15 : 66-8.

Bukowska B. 2,4,5-T and 2,4,5-TCP induce oxidative damage in human erythrocytes: the role of glutathione. *Cell Biol Int* 2004 ; 28 : 557-63.

Buralli RJ, Ribeiro H, Mauad T, *et al*. Respiratory condition of family farmers exposed to pesticides in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Environ Res Public Health* 2018 ; 15.

Callahan CL, Al-Batanony M, Ismail AA, *et al*. Chlorpyrifos exposure and respiratory health among adolescent agricultural workers. *Int J Environ Res Public Health* 2014 ; 11 : 13117-29.

Carey MA, Card JW, Voltz JW, *et al*. It's all about sex: gender, lung development and lung disease. *Trends Endocrinol Metab* 2007 ; 18 : 308-13.

Castro-Gutiérrez N, McConnell R, Andersson K, *et al*. Respiratory symptoms, spirometry and chronic occupational paraquat exposure. *Scand J Work Environ Health* 1997 ; 23 : 421-7.

Cha ES, Lee YK, Moon EK, *et al*. Paraquat application and respiratory health effects among South Korean farmers. *Occup Environ Med* 2012 ; 69 : 398-403.

Changeux J-P. Nicotine addiction and nicotinic receptors: lessons from genetically modified mice. *Nat Rev Neurosci* 2010 ; 11 : 389-401.

Cherry N, Beach J, Senthilselvan A, *et al*. Pesticide use and asthma in Alberta grain farmers. *Int J Environ Res Public Health* 2018 ; 15.

Cooper Glinda S, Martin Stephen A, Longnecker Matthew P, *et al*. Associations between plasma DDE levels and immunologic measures in African-American farmers in North Carolina. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 1080-4.

Corsini E, Sokooti M, Galli CL, *et al*. Pesticide induced immunotoxicity in humans: a comprehensive review of the existing evidence. *Toxicology* 2013 ; 307 : 123-35.

Corsini E, Viviani B, Birindelli S, *et al*. Molecular mechanisms underlying mancozeb-induced inhibition of TNF-alpha production. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006 ; 212 : 89-98.

Corsini E, Birindelli S, Fustinoni S, *et al*. Immunomodulatory effects of the fungicide Mancozeb in agricultural workers. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005 ; 208 : 178-85.

Coulson FR, Fryer AD. Muscarinic acetylcholine receptors and airway diseases. *Pharmacol Ther* 2003 ; 98 : 59-69.

Daniel V, Huber W, Bauer K, *et al.* Associations of blood levels of PCB, HCHS, and HCB with numbers of lymphocyte subpopulations, in vitro lymphocyte response, plasma cytokine levels, and immunoglobulin autoantibodies. *Environ Health Perspect* 2001 ; 109 : 173-8.

De Jong K, Boezen HM, Kromhout H, *et al.* Association of occupational pesticide exposure with accelerated longitudinal decline in lung function. *Am J Epidemiol* 2014a ; 179 : 1323-30.

De Jong K, Boezen HM, Kromhout H, *et al.* Occupational exposure to vapors, gases, dusts, and fumes is associated with small airways obstruction. *Am J Crit Care Med* 2014b ; 189 : 487-90.

De Jong K, Boezen HM, Kromhout H, *et al.* Pesticides and other occupational exposures are associated with airway obstruction: the LifeLines cohort study. *Occup Environ Med* 2014c ; 71 : 88-96.

Delgado EHB, Streck EL, Quevedo JL, *et al.* Mitochondrial respiratory dysfunction and oxidative stress after chronic malathion exposure. *Neurochem Res* 2006 ; 31 : 1021-5.

Delmas MC, Guignon N, Leynaert B, *et al.* Increase in asthma prevalence among young children in France. *Rev Mal Respir* 2017 ; 34 : 525-34.

Desalu O, Busari O, Adeoti A. Respiratory symptoms among crop farmers exposed to agricultural pesticide in three rural communities in South Western Nigeria: a preliminary study. *Ann Med Health Sci Res* 2014 ; 4 : 662-6.

Deschamps D, Questel F, Baud F, *et al.* Persistent asthma after acute inhalation of organophosphate insecticide. *Lancet* 1994 ; 344 : 1712.

Diaz-Criollo S, Palma M, Monroy-Garcia AA, *et al.* Chronic pesticide mixture exposure including paraquat and respiratory outcomes among Colombian farmers. *Ind Health* 2019.

Doust E, Ayres JG, Devereux G, *et al.* Is pesticide exposure a cause of obstructive airways disease? *Eur Respir Rev* 2014 ; 23 : 180-92.

Draper A, Cullinan P, Campbell C, *et al.* Occupational asthma from fungicides fluazinam and chlorothalonil. *Occup Environ Med* 2003 ; 60 : 76-7.

ECRHS. Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). *Eur Respir J* 1996 ; 9 : 687-95.

Eglen RM. Muscarinic receptor subtypes in neuronal and non-neuronal cholinergic function. *Auton Autacoid Pharmacol* 2006 ; 26 : 219-33.

Falcioni ML, Nasuti C, Bergamini C, *et al.* The primary role of glutathione against nuclear DNA damage of striatum induced by permethrin in rats. *Neuroscience* 2010 ; 168 : 2-10.

Fang B, Li JW, Zhang M, *et al.* Chronic chlorpyrifos exposure elicits diet-specific effects on metabolism and the gut microbiome in rats. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 111 : 144-52.

Fareed M, Pathak MK, Bihari V, *et al.* Adverse respiratory health and hematological alterations among agricultural workers occupationally exposed to organophosphate pesticides: a cross-sectional study in North India. *PLoS One* 2013 ; 8 : e69755.

Fernandez-Vidal A, Arnaud LC, Maumus M, *et al.* Exposure to the fungicide captan induces DNA base alterations and replicative stress in mammalian cells. *Environ Mol Mutagen* 2019 ; 60 : 286-97.

Ferrari A, Venturino A, Pechén de D'Angelo, Ana M. Muscular and brain cholinesterase sensitivities to azinphos methyl and carbaryl in the juvenile rainbow trout Oncorhynchus mykiss. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2007 ; 146 : 308-13.

Filipak Neto F, Zanata SM, Silva de Assis HC, *et al.* Toxic effects of DDT and methyl mercury on the hepatocytes from Hoplias malabaricus. *Toxicol In Vitro* 2008 ; 22 : 1705-13.

Fiori NS, Fassa AG, Faria NMX, *et al.* Wheezing in tobacco farm workers in southern Brazil. *Am J Ind Med* 2015 ; 58 : 1217-28.

Fortunato JJ, Feier G, Vitali AM, *et al.* Malathion-induced oxidative stress in rat brain regions. *Neurochem Res* 2006 ; 31 : 671-8.

Fryer AD, Lein PJ, Howard AS, *et al.* Mechanisms of organophosphate insecticide-induced airway hyperreactivity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004 ; 286 : L963-L969.

Fryer AD, Wills-Karp M. Dysfunction of M2-muscarinic receptors in pulmonary parasympathetic nerves after antigen challenge. *J Appl Physiol* 1991 ; 71 : 2255-61.

Fuhrman C, Delmas MC. Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease in France. *Rev Mal Respir* 2010 ; 27 : 160-8.

Fukuyama T, Tajima Y, Ueda H, *et al.* Allergic reaction induced by dermal and/or respiratory exposure to low-dose phenoxyacetic acid, organophosphorus, and carbamate pesticides. *Toxicology* 2009 ; 261 : 152-61.

Gabbianelli R, Falcioni ML, Nasuti C, *et al.* Effect of permethrin insecticide on rat polymorphonuclear neutrophils. *Chem Biol Interact* 2009 ; 182 : 245-52.

Galloway T, Handy R. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. *Ecotoxicology* 2003 ; 12 : 345-63.

Gao H, Di Wang, Zhang S, *et al.* Roles of ROS mediated oxidative stress and DNA damage in 3-methyl-2-quinoxalin benzenevinylketo-1, 4-dioxide-induced immunotoxicity of Sprague-Dawley rats. *Regul Toxicol Pharmacol* 2015 ; 73 : 587-94.

García-Fernández AJ, Bayoumi AE, Pérez-Pertejo Y, *et al.* Changes in glutathione-redox balance induced by hexachlorocyclohexane and lindane in CHO-K1 cells. *Xenobiotica* 2002 ; 32 : 1007-16.

Gascon M, Sunyer J, Casas M, *et al.* Prenatal exposure to DDE and PCB 153 and respiratory health in early childhood: a meta-analysis. *Epidemiology* 2014 ; 25 : 544-53.

Gascon M, Vrijheid M, Martinez D, *et al.* Pre-natal exposure to dichlorodiphenyldichloroethylene and infant lower respiratory tract infections and wheeze. *Eur Respir J* 2012 ; 39 : 1188-96.

Gaspar-Ramírez O, Pérez-Vázquez FJ, Salgado-Bustamante M, *et al.* DDE and PCB 153 independently induce aryl hydrocarbon receptor (AhR) expression in peripheral blood mononuclear cells. *J Immunotoxicol* 2015 ; 12 : 266-72.

GBD. Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 2017 ; 390 : 1211-59.

GBD. Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016 ; 388 : 1545-602.

Genuneit J. Exposure to farming environments in childhood and asthma and wheeze in rural populations: a systematic review with meta-analysis. *Pediatr Allergy Immunol* 2012 ; 23 : 509-18.

Gibson GJ, Loddenkemper R, Lundbäck B, Sibille Y. Respiratory health and disease in Europe: the new European Lung White Book. *Eur Respir J* 2013 ; 42 : 559-63.

Gunier RB, Raanan R, Castorina R, *et al.* Residential proximity to agricultural fumigant use and respiratory health in 7-year old children. *Environ Res* 2018 ; 164 : 93-9.

Gwilt CR, Donnelly LE, Rogers DF. The non-neuronal cholinergic system in the airways: An unappreciated regulatory role in pulmonary inflammation? *Pharmacol Ther* 2007 ; 115 : 208-22.

Hansen S, Strøm M, Olsen SF, *et al.* Prenatal exposure to persistent organic pollutants and offspring allergic sensitization and lung function at 20 years of age. *Clin Exp Allergy* 2016 ; 46 : 329-36.

Hanssen VM, Nigatu AW, Zeleke ZK, *et al.* High prevalence of respiratory and dermal symptoms among Ethiopian flower farm workers. *Arch Environ Occup Health* 2015 ; 70 : 204-13.

Haque MN, Eom H-J, Nam S-E, *et al.* Chlorothalonil induces oxidative stress and reduces enzymatic activities of Na+/K+-ATPase and acetylcholinesterase in gill tissues of marine bivalves. *PLoS One* 2019 ; 14 : e0214236.

Henneberger PK, Liang X, London SJ, *et al.* Exacerbation of symptoms in agricultural pesticide applicators with asthma. *Int Arch Occup Environ Health* 2014 ; 87 : 423-32.

Hernandez-Moreno D, Miguez MP, Soler F, *et al.* Influence of sex on biomarkers of oxidative stress in the kidney, lungs, and liver of rabbits after exposure to diazinon. *Environ Sci Pollut Res* 2018 ; 25 : 32458-65.

Hoppin JA, Umbach DM, Long S, *et al.* Pesticides are associated with allergic and non-allergic wheeze among male farmers. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 535-43.

Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, *et al*. Pesticide use and adult-onset asthma among male farmers in the Agricultural Health Study. *Eur Respir J* 2009 ; 34 : 1296-303.

Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, *et al*. Pesticides and atopic and nonatopic asthma among farm women in the Agricultural Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2008 ; 177 : 11-8.

Hoppin JA, Valcin M, Henneberger PK, *et al*. Pesticide use and chronic bronchitis among farmers in the Agricultural Health Study. *Am J Ind Med* 2007 ; 50 : 969-79.

Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, *et al*. Pesticides associated with wheeze among commercial pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Am J Epidemiol* 2006 ; 163 : 1129-37.

Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, *et al*. Chemical predictors of wheeze among farmer pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 165 : 683-9.

Ibrahim ATA, Harabawy ASA. Sublethal toxicity of carbofuran on the African catfish Clarias gariepinus: Hormonal, enzymatic and antioxidant responses. *Ecotoxicol Environ Saf* 2014 ; 106 : 33-9.

Imamura L, Hasegawa H, Kurashina K, *et al*. Repression of activity-dependent c-fos and brain-derived neurotrophic factor mRNA expression by pyrethroid insecticides accompanying a decrease in Ca2+ influx into neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 2000 ; 295 : 1175.

ISAAC. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J* 1998 ; 12 : 315-35.

Jalilian H, Neghab M, Tatar M, *et al*. Respiratory and dermal symptoms and raised serum concentrations of biomarkers of oxidative stress among pesticide retailers. *Int J Occup Environ Med* 2018 ; 9 : 194-204.

Jin X, Song L, Liu X, *et al*. Protective efficacy of vitamins C and E on p,p'-DDT-induced cytotoxicity via the ROS-mediated mitochondrial pathway and NF-κB/FasL pathway. *PLoS One* 2014 ; 9 : e113257.

Kamboj SS, Kumar V, Kamboj A, *et al*. Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in rat brain induced by carbofuran exposure. *Cell Mol Neurobiol* 2008 ; 28 : 961-9.

Kang HK, Dalager NA, Needham LL, *et al*. Health status of Army Chemical Corps Vietnam veterans who sprayed defoliant in Vietnam. *Am J Ind Med* 2006 ; 49 : 875-84.

Kašuba V, Milić M, Rozgaj R, *et al*. Effects of low doses of glyphosate on DNA damage, cell proliferation and oxidative stress in the HepG2 cell line. *Environ Sci Pollut Res* 2017 ; 24 : 19267-81.

Kavitha P, Rao JV. Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, Gambusia affinis. *Environ Toxicol Pharmacol* 2008 ; 26 : 192-8.

Kim JH, Lee S, Kim K-N, *et al.* Association of urinary 3-phenoxybenzoic acid level with pulmonary function reduction in an urban elderly population with repeated measures data. *Environ Pollut* 2019 ; 246 : 811-8.

Kips JC, Tavernier J, Pauwels RA. Tumor necrosis factor causes bronchial hyperresponsiveness in rats. *Am Rev Respir Dis* 1992 ; 145 : 332-6.

Kirkpatrick CJ, Bittinger F, Nozadze K, *et al.* Expression and function of the nonneuronal cholinergic system in endothelial cells. *Life Sci* 2003 ; 72 : 2111-6.

Kitazawa M, Anantharam V, Kanthasamy AG. Dieldrin-induced oxidative stress and neurochemical changes contribute to apoptopic cell death in dopaminergic cells. *Free Radic Biol Med* 2001 ; 31 : 1473-85.

Koureas M, Tsakalof A, Tsatsakis A, *et al.* Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. *Toxicol Lett* 2012 ; 210 : 155-68.

Kransler KM, McGarrigle BP, Swartz DD, *et al.* Lung Development in the Holtzman rat is adversely affected by gestational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Sci* 2008 ; 107 : 498-511.

Kwiatkowska M, Reszka E, Woźniak K, *et al.* DNA damage and methylation induced by glyphosate in human peripheral blood mononuclear cells (in vitro study). *Food Chem Toxicol* 2017 ; 105 : 93-8.

Ledirac N, Antherieu S, d'Uby AD, *et al.* Effects of organochlorine insecticides on MAP kinase pathways in human HaCaT keratinocytes: key role of reactive oxygen species. *Toxicol Sci* 2005 ; 86 : 444-52.

Lein PJ, Fryer AD. Organophosphorus insecticides induce airway hyperreactivity by decreasing neuronal M2 muscarinic receptor function independent of acetylcholinesterase inhibition. *Toxicol Sci* 2004 ; 83 : 166-76.

Li J, Li Y, Tian D, *et al.* The association of self-reported respiratory system diseases with farming activity among farmers of greenhouse vegetables. *J Int Med Res* 2019 ; 47 : 3140-50.

Liu B, Jung KH, Horton MK, *et al.* Prenatal exposure to pesticide ingredient piperonyl butoxide and childhood cough in an urban cohort. *Environ Int* 2012 ; 48 : 156-61.

Liu Q, Wang Q, Xu C, *et al.* Organochloride pesticides impaired mitochondrial function in hepatocytes and aggravated disorders of fatty acid metabolism. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 46339.

Liu S, Wolters PJ, Zhang Y, *et al.* Association between greenhouse working exposure and bronchial asthma: A pilot, cross-sectional survey of 5,420 greenhouse farmers from northeast China. *J Occup Environ Hyg* 2019 : 1-8.

Liu W, Du Y, Liu J, *et al.* Effects of atrazine on the oxidative damage of kidney in Wister rats. *Int J Clin Exp Med* 2014 ; 7 : 3235-43.

Lozano R, Naghavi M, Foreman K, *et al.* Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012 ; 380 : 2095-128.

Lu XT, Ma Y, Wang C, *et al*. Cytotoxicity and DNA damage of five organophosphorus pesticides mediated by oxidative stress in PC12 cells and protection by vitamin E. *J Environ Sci Health B* 2012 ; 47 : 445-54.

Lytras T, Kogevinas M, Kromhout H, *et al*. Occupational exposures and incidence of chronic bronchitis and related symptoms over two decades: the European Community Respiratory Health Survey. *Occup Environ Med* 2019 ; 76 : 222-9.

Lytras T, Kogevinas M, Kromhout H, *et al*. Occupational exposures and 20-year incidence of COPD: the European Community Respiratory Health Survey. *Thorax* 2018 ; 73 : 1008-15.

Mamane A, Baldi I, Tessier J-F, *et al*. Occupational exposure to pesticides and respiratory health. *Eur Respir Rev* 2015a ; 24 : 306-19.

Mamane A, Raherison C, Tessier J-F, *et al*. Environmental exposure to pesticides and respiratory health. *Eur Respir Rev* 2015b ; 24 : 462-73.

Mangum LC, Borazjani A, Stokes JV, *et al*. Organochlorine insecticides induce NADPH oxidase-dependent reactive oxygen species in human monocytic cells via phospholipase A2/arachidonic acid. *Chem Res Toxicol* 2015 ; 28 : 570-84.

Martínez M-A, Rodríguez J-L, Lopez-Torres B, *et al*. Oxidative stress and related gene expression effects of cyfluthrin in human neuroblastoma SH-SY5Y cells: Protective effect of melatonin. *Environ Res* 2019 ; 177 : 108579.

Meng G, Feng Y, Nie Z, *et al*. Internal exposure levels of typical POPs and their associations with childhood asthma in Shanghai, China. *Environ Res* 2016 ; 146 : 125-35.

Mwanga HH, Dalvie MA, Singh TS, *et al*. Relationship between pesticide metabolites, cytokine patterns, and asthma-related outcomes in rural women workers. *Int J Environ Res Public Health* 2016 ; 13.

Ndlovu V, Dalvie MA, Jeebhay MF. Asthma associated with pesticide exposure among women in rural Western Cape of South Africa. *Am J Ind Med* 2014 ; 57 : 1331-43.

Negatu B, Kromhout H, Mekonnen Y, *et al*. Occupational pesticide exposure and respiratory health: a large-scale cross-sectional study in three commercial farming systems in Ethiopia. *Thorax* 2017 ; 72 : 498-9.

Nishino R, Fukuyama T, Tajima Y, *et al*. Prior oral exposure to environmental immunosuppressive chemicals methoxychlor, parathion, or piperonyl butoxide aggravates allergic airway inflammation in NC/Nga mice. *Toxicology* 2013 ; 309 : 1-8.

Ogasawara N, Matsushima M, Kawamura N, *et al*. Modulation of immunological activity on macrophages induced by diazinon. *Toxicology* 2017 ; 379 : 22-30.

Ojha A, Yaduvanshi SK, Pant SC, *et al*. Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by three commonly used organophosphate pesticides individually and in mixture, in rat tissues. *Environ Toxicol* 2013 ; 28 : 543-52.

Oostingh GJ, Wichmann G, Schmittner M, *et al*. The cytotoxic effects of the organophosphates chlorpyrifos and diazinon differ from their immunomodulating effects. *J Immunotoxicol* 2009 ; 6 : 136-45.

Oruç EÖ, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of Cyprinus carpio. *Environ Toxicol Pharmacol* 2007 ; 23 : 48-55.

Pandit AA, Gandham RK, Mukhopadhyay CS, *et al*. Transcriptome analysis reveals the role of the PCP pathway in fipronil and endotoxin-induced lung damage. *Respir Res* 2019 ; 20 : 24.

Pandit AA, Choudhary S, Ramneek, *et al*. Imidacloprid induced histomorphological changes and expression of TLR-4 and TNFα in lung. *Pestic Biochem Physiol* 2016 ; 131 : 9-17.

Patel O, Syamlal G, Henneberger PK, *et al*. Pesticide use, allergic rhinitis, and asthma among US farm operators. *J Agromedicine* 2018 ; 23 : 327-35.

Perla ME, Rue T, Cheadle A, *et al*. Biomarkers of insecticide exposure and asthma in children: a national health and nutrition examination survey (NHANES) 1999-2008 analysis. *Arch Environ Occup Health* 2015 ; 70 : 309-22.

Pfeil U, Lips KS, Eberling L, *et al*. Expression of the high-affinity choline transporter, CHT1, in the rat trachea. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003 ; 28 : 473-7.

Pourhassan B, Meysamie A, Alizadeh S, *et al*. Risk of obstructive pulmonary diseases and occupational exposure to pesticides: a systematic review and meta-analysis. *Public Health* 2019 ; 174 : 31-41.

Proskocil BJ, Bruun DA, Jacoby DB, *et al*. Macrophage TNF-α mediates parathion-induced airway hyperreactivity in guinea pigs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2013 ; 304 : L519-L529.

Quansah R, Bend JR, Abdul-Rahaman A, *et al*. Associations between pesticide use and respiratory symptoms: A cross-sectional study in Southern Ghana. *Environ Res* 2016 ; 150 : 245-54.

Queiroz ML, Bincoletto C, Perlingeiro RC, *et al*. Immunoglobulin levels in workers exposed to hexachlorobenzene. *Hum Exp Toxicol* 1998 ; 17 : 172-5.

Raanan R, Gunier RB, Balmes JR, *et al*. Elemental sulfur use and associations with pediatric lung function and respiratory symptoms in an agricultural community (California, USA). *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 87007.

Raanan R, Balmes JR, Harley KG, *et al*. Decreased lung function in 7-year-old children with early-life organophosphate exposure. *Thorax* 2016 ; 71 : 148-53.

Raanan R, Harley KG, Balmes JR, *et al*. Early-life exposure to organophosphate pesticides and pediatric respiratory symptoms in the CHAMACOS cohort. *Environ Health Perspect* 2015 ; 123 : 179-85.

Racké K, Juergens UR, Matthiesen S. Control by cholinergic mechanisms. *Eur J Pharmacol* 2006 ; 533 : 57-68.

Ragland MF, Benway CJ, Lutz SM, *et al.* Genetic Advances in COPD: Insights from COPDGene. *Am J Respir Crit Care Med* 2019.

Raherison C, Baldi I, Pouquet M, *et al.* Pesticides exposure by air in vineyard rural area and respiratory health in children: a pilot study. *Environ Res* 2019 ; 169 : 189-95.

Reed A, Dzon L, Loganathan BG, *et al.* Immunomodulation of human natural killer cell cytotoxic function by organochlorine pesticides. *Hum Exp Toxicol* 2004 ; 23 : 463-71.

Rinsky JL, Richardson DB, Kreiss K, *et al.* Animal production, insecticide use and self-reported symptoms and diagnoses of COPD, including chronic bronchitis, in the Agricultural Health Study. *Environ Int* 2019 ; 127 : 764-72.

Rogers DF. Motor control of airway goblet cells and glands. *Respir Physiol* 2001 ; 125 : 129-44.

Royce S, Wald P, Sheppard D, *et al.* Occupational asthma in a pesticides manufacturing worker. *Chest* 1993 ; 103 : 295-6.

Ruiz de Arcaute C, Larramendy ML, Soloneski S. Genotoxicity by long-term exposure to the auxinic herbicides 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and dicamba on Cnesterodon decemmaculatus (Pisces: Poeciliidae). *Environ Pollut* 2018 ; 243 : 670-8.

Sandeep K, Mukhopadhyay CS, Arora JS, *et al.* Indoxacarb interaction alters immunotoxic and genotoxic potential of endotoxin. *J Pestic Sci* 2016 ; 41 : 65-70.

Santovito A, Gendusa C, Ferraro F, *et al.* Genomic damage induced by the widely used fungicide chlorothalonil in peripheral human lymphocytes. *Ecotoxicol Environ Saf* 2018 ; 161 : 578-83.

Sapbamrer R, Thongtip S, Khacha-Ananda S, *et al.* Changes in lung function and respiratory symptoms during pesticide spraying season among male sprayers. *Arch Environ Occup Health* 2019 : 1-10.

Sarıgöl Kılıç Z, Aydın S, Ündeğer Bucurgat Ü, *et al.* In vitro genotoxicity assessment of dinitroaniline herbicides pendimethalin and trifluralin. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 113 : 90-8.

Sá-Sousa A, Jacinto T, Azevedo LF, *et al.* Operational definitions of asthma in recent epidemiological studies are inconsistent. *Clin Transl Allergy* 2014 ; 4 : 24.

Schaale K, Brandenburg J, Kispert A, *et al.* Wnt6 is expressed in granulomatous lesions of mycobacterium tuberculosis-infected mice and is involved in macrophage differentiation and proliferation. *J Immunol* 2013 ; 191 : 5182.

Schenker MB, Stoecklin M, Lee K, *et al.* Pulmonary function and exercise-associated changes with chronic low-level paraquat exposure. *Am J Respir Crit Care Med* 2004 ; 170 : 773-9.

Schweikert K, Burritt DJ. The organophosphate insecticide Coumaphos induces oxidative stress and increases antioxidant and detoxification defences in the green macroalgae Ulva pertusa. *Aquat Toxicol* 2012 ; 122-123 : 86-92.

Senthilselvan A, McDuffie HH, Dosman JA. Association of asthma with use of pesticides: Results of a cross-sectional survey of farmers. *Am Rev Respir Dis* 1992 ; 146 : 884-7.

Shaffo FC, Grodzki AC, Fryer AD, *et al*. Mechanisms of organophosphorus pesticide toxicity in the context of airway hyperreactivity and asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2018a ; 315 : L485-L501.

Shaffo FC, Grodzki AC, Schelegle ES, *et al*. The organophosphorus pesticide chlorpyrifos induces sex-specific airway hyperreactivity in adult rats. *Toxicol Sci* 2018b ; 165 : 244-53.

Soriano JB, Abajobir AA, Abate KH, *et al*. Global, regional, and national deaths, prevalence, disability-adjusted life years, and years lived with disability for chronic obstructive pulmonary disease and asthma, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Respir Med* 2017 ; 5 : 691-706.

Srivastava A, Shivanandappa T. Causal relationship between Hexachlorocyclohexane cytotoxicity, oxidative stress and Na+, K+-ATPase in Ehrlich Ascites Tumor cells. *Mol Cell Biochem* 2006 ; 286 : 87-93.

Stoecklin-Marois MT, Bigham CW, Bennett D, *et al*. Occupational exposures and migration factors associated with respiratory health in California Latino farm workers: the MICASA study. *J Occup Environ Med* 2015 ; 57 : 152-8.

Tagiyeva N, Teo E, Fielding S, *et al*. Occupational exposure to asthmagens and adult onset wheeze and lung function in people who did not have childhood wheeze: A 50-year cohort study. *Environ Int* 2016 ; 94 : 60-8.

Tewari A, Bedi J, Singh B, *et al*. Oral exposure of deltamethrin and/or lipopolysaccharide (LPS) induced activation of the pulmonary immune system in Swiss albino mice. *Environ Sci Pollut Res* 2018 ; 25 : 15436-48.

Tewari A, Sethi RS, Banga HS, *et al*. Concomitant effect of low dose of lindane and intranasal lipopolysaccharide on respiratory system of mice. *Hum Exp Toxicol* 2017 ; 36 : 1201-11.

Torén K, Murgia N, Olin A-C, *et al*. Validity of physician-diagnosed COPD in relation to spirometric definitions of COPD in a general population aged 50-64 years - the SCAPIS pilot study. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2017 ; 12 : 2269-75.

Torén K, Brisman J, Järvholm B. Asthma and asthma-like symptoms in adults assessed by questionnaires. A literature review. *Chest* 1993 ; 104 : 600-8.

Tual S, Clin B, Leveque-Morlais N, *et al*. Agricultural exposures and chronic bronchitis: findings from the AGRICAN (AGRIculture and CANcer) cohort. *Ann Epidemiol* 2013 ; 23 : 539-45.

Upton MN, McConnachie A, McSharry C, *et al*. Intergenerational 20 year trends in the prevalence of asthma and hay fever in adults: the Midspan family study surveys of parents and offspring. *BMJ* 2000 ; 321 : 88-92.

Valcin M, Henneberger PK, Kullman GJ, *et al*. Chronic bronchitis among nonsmoking farm women in the agricultural health study. *J Occup Environ Med* 2007 ; 49 : 574-83.

van der Plaat DA, de Jong K, de Vries M, *et al*. Occupational exposure to pesticides is associated with differential DNA methylation. *Occup Environ Med* 2018 ; 75 : 427-35.

Verma R, Awasthi KK, Rajawat NK, *et al*. Curcumin modulates oxidative stress and genotoxicity induced by a type II fluorinated pyrethroid, beta-cyfluthrin. *Food Chem Toxicol* 2016 ; 97 : 168-76.

von Mutius E. Allergies, infections and the hygiene hypothesis--the epidemiological evidence. *Immunobiology* 2007 ; 212 : 433-9.

Wang H-P, Liang Y-J, Long D-X, *et al*. Metabolic profiles of serum from rats after subchronic exposure to chlorpyrifos and carbaryl. *Chem Res Toxicol* 2009 ; 22 : 1026-33.

Wang M, Zhou Q. Effect of herbicide chlorimuron-ethyl on physiological mechanisms in wheat (Triticum aestivum). *Ecotoxicol Environ Saf* 2006 ; 64 : 190-7.

Wang XH, Zheng SS, Huang T, *et al*. Fluazinam impairs oxidative phosphorylation and induces hyper/hypo-activity in a dose specific manner in zebrafish larvae. *Chemosphere* 2018 ; 210 : 633-44.

Weis GCC, Assmann CE, Cadoná FC, *et al*. Immunomodulatory effect of mancozeb, chlorothalonil, and thiophanate methyl pesticides on macrophage cells. *Ecotoxicol Environ Saf* 2019 ; 182 : 109420.

Wolansky MJ, Harrill JA. Neurobehavioral toxicology of pyrethroid insecticides in adult animals: a critical review. *Neurotoxicol Teratol* 2008 ; 30 : 55-78.

Woźniak E, Sicińska P, Michałowicz J, *et al*. The mechanism of DNA damage induced by Roundup 360 PLUS, glyphosate and AMPA in human peripheral blood mononuclear cells - genotoxic risk assessement. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 120 : 510-22.

Yarsan E, Cakir O. Effects of dichlorvos on lipid peroxidation in mice on subacute and subchronic periods. *Pestice Biochem Physiol* 2006 ; 86 : 106-9.

Yasunaga S, Nishi K, Nishimoto S, *et al*. Methoxychlor enhances degranulation of murine mast cells by regulating FcεRI-mediated signal transduction. *J Immunotoxicol* 2015 ; 12 : 283-9.

Ye M, Beach J, Martin JW, *et al*. Pesticide exposures and respiratory health in general populations. *J Environ Sci (China)* 2017 ; 51 : 361-70.

Ye M, Beach J, Martin JW, *et al*. Association between lung function in adults and plasma DDT and DDE levels: results from the Canadian Health Measures Survey. *Environ Health Perspect* 2015 ; 123 : 422-7.

Zhang C, Qin L, Dou D-C, *et al*. Atrazine induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in quail (Coturnix C. coturnix) kidney via modulating Nrf2 signaling pathway. *Chemosphere* 2018 ; 212 : 974-82.

Zhang X, Wallace AD, Du P, *et al*. DNA methylation alterations in response to pesticide exposure in vitro. *Environ Mol Mutagen* 2012 ; 53 : 542-9.

Zhang Y, Cardell L-O, Adner M. IL-1β induces murine airway 5-HT2A receptor hyperresponsiveness via a non-transcriptional MAPK-dependent mechanism. *Respir Res* 2007 ; 8 : 29.

Zhao Y, Zhang Y, Wang G, *et al*. Effects of chlorpyrifos on the gut microbiome and urine metabolome in mouse (Mus musculus). *Chemosphere* 2016 ; 153 : 287-93.

17
Pathologies thyroïdiennes

L'expertise collective de l'Inserm sur les pesticides, publiée en 2013, n'avait pas analysé de manière approfondie les pathologies de la thyroïde en raison du faible nombre d'études sur ce sujet. Ces dernières avaient été abordées sous la forme d'une communication sur les pathologies métaboliques qui comprenaient l'obésité, le diabète et les dysfonctions thyroïdiennes (Inserm, 2013). Malgré des données toxicologiques positives pour certains pesticides sur des modèles *in vivo* (rongeurs) ou *in vitro*, aucune étude de cohorte prospective en population générale n'existait à l'époque, et il était difficile de conclure quant aux effets des pesticides sur la fonction thyroïdienne à partir de quelques études transversales. Ces études montraient de faibles associations entre certains composés, appartenant aux familles des organophosphorés ou des organochlorés, et une modification du taux d'hormones thyroïdiennes (HT) ou une hypothyroïdie. Depuis, la littérature s'est étoffée tant en épidémiologie qu'en toxicologie moléculaire avec pour conséquence cette synthèse des connaissances sur le rôle des pesticides dans la survenue de pathologies thyroïdiennes.

Physiologie de la thyroïde

La thyroïde est une glande constituée de deux lobes reliés par un isthme, située à la base du cou, en avant de la trachée. Elle est organisée en follicules formés par une monocouche de cellules épithéliales, les thyréocytes, délimitant une cavité (l'espace folliculaire) contenant la substance colloïde. Les thyréocytes, responsables de la synthèse des HT, représentent plus de 99 % des cellules de la glande. Ces cellules bipolaires ont une fonction exocrine vers la cavité folliculaire, et endocrine vers la circulation sanguine. La thyroïde comporte par ailleurs des cellules dites parafolliculaires (cellules claires ou C) responsables de la synthèse de la calcitonine, une hormone qui régule l'homéostasie calcique. Les HT régulent divers processus physiologiques : le métabolisme cellulaire, l'énergie musculaire et la température du corps, l'humeur, le rythme cardiaque, la motricité du tube digestif, l'utilisation et

la transformation des glucides, des lipides et des protéines issues de l'alimentation, et la croissance et le développement de l'enfant.

Hormones thyroïdiennes

La thyréostimuline ou thyrotropine (*Thyroid-Stimulating Hormone* ; TSH), hormone d'origine hypophysaire, stimule la biosynthèse des HT dans la thyroïde. Cela permet la synthèse de la thyroglobuline (TG), une glycoprotéine de 660 kDa, et précurseur de la tri-iodothyronine (T3) et de la tétra-iodothyronine ou thyroxine (T4). Le colloïde joue un rôle important dans l'hormonogenèse en stockant la TG iodée à haute concentration (Brent, 2012). L'iode est un oligo-élément qui est indispensable à la fabrication des HT. Une dose minimale d'iode est nécessaire pour un bon fonctionnement de la thyroïde. Présent en très faible quantité dans le corps, il doit être fourni par l'alimentation quotidienne (notamment sel iodé de cuisine, poissons, fruits de mer). La TSH participe à la captation de l'iode de la circulation sanguine et sa fixation sur la TG, puis à terme à la libération de T3, T4 et de TG dans la circulation sanguine.

La première étape du processus d'iodation concerne la capture d'ions iodures circulants via un symport Na^+/I^- membranaire, le *Natrium Iodide Symporter* (NIS) (Darrouzet et coll., 2014) (figure 17.1). L'activité et l'expression de ce transporteur sont stimulées par la TSH. L'iode est oxydé en présence d'H_2O_2 par la thyroperoxydase (TPO) localisée sur la membrane en contact avec le colloïde et peut ainsi se lier aux résidus tyrosine de la TG. Cette réaction aboutit à la formation du mono-iodotyrosine (MIT) puis avec la fixation d'un second atome d'iode, au di-iodotyrosine (DIT). Les molécules de TG iodées sont substrats d'une réaction de couplage des résidus iodotyrosine catalysée par la TPO produisant la T3 (MIT + DIT) et la T4 (DIT + DIT). Cette dernière est une hormone de réserve, produite en plus grande quantité que la T3 et qui peut à tout moment être modifiée en T3 par la déiodation qui est la forme active. La MIT et la DIT sont métabolisées, dans la thyroïde, en iodure et en tyrosine par une iodotyrosine déhalogénase (Dehal1). L'iodure ainsi libéré peut alors être réintroduit dans le processus d'organification. L'activité Dehal1 est critique pour la synthèse de quantités adéquates d'HT car elle assure ce recyclage de l'iodure intra-thyroïdien à partir des formes intermédiaires des HT. La quantité d'iodure recyclé est 3 à 5 fois plus importante que celle provenant de l'alimentation au niveau de l'iode utilisé dans la synthèse des HT (Hichri, 2018).

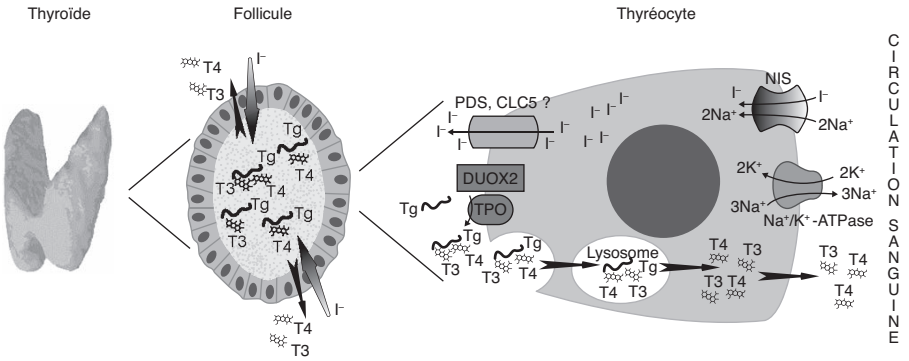


Figure 17.1 : Biosynthèse des hormones thyroïdiennes (d'après Darrouzet et coll., 2014)

(Figure traduite de l'anglais)

Régulation de la production et de la biodisponibilité des hormones thyroïdiennes

La régulation en amont de la synthèse hormonale repose sur la sécrétion et action de l'hormone thyréotrope (*Thyrotropin-Releasing Hormone* ; TRH) produite par les neurones du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus et dont la sécrétion est contrôlée par les récepteurs aux hormones thyroïdiennes (*Thyroid Hormone Receptors* ; TR, rétrocontrôle négatif en cas d'excès) et une voie nerveuse (conditionnée par la disponibilité en nourriture, la température corporelle, le fonctionnement cardiovasculaire...) (Chiamolera et Wondisford, 2009). La TRH stimule la synthèse de la TSH par l'antéhypophyse dont la sécrétion est aussi contrôlée par les TR (Szkudlinski et coll., 2002). La TSH se lie au récepteur de l'hormone stimulant la thyroïde (TSHR) exprimé au niveau de la membrane basolatérale des cellules folliculaires de la thyroïde. Ce récepteur couplé à la protéine G provoque par l'intermédiaire de l'adénylate cyclase, une augmentation de l'adénosine 3',5'-monophosphate cyclique (AMPc) intracellulaire entraînant une production accrue d'HT dans les cellules folliculaires. Seules les concentrations circulantes libres (T4L et T3L ; L pour « libre ») participent au rétrocontrôle négatif sur la TSH hypophysaire et la TRH hypothalamique.

Les hormones T3 et T4 sont liées à plus de 99 % aux protéines plasmatiques de transport : *Thyroxine-Binding Globulin* (TBG), transthyrétine (TTR) ou albumine (Janssen et Janssen, 2017). Chez l'être humain, la T4 circulante est à 75 % liée à la TBG, à 15 % à la TTR et à 10 % à l'albumine. La fraction libre des HT représente en effet moins de 0,5 % de la concentration sérique totale.

Seule la fraction libre (T3L, T4L) traverse la membrane des capillaires sanguins et les HT sont transportées activement à travers la membrane cellulaire des cellules cibles via des transporteurs appartenant à différentes familles telles que les *Organic Anion Transporting Polypeptide* (OATP), *Multidrug Resistance-Associated Protein*, *Na^+-Taurocholate Cotransporting Polypeptide* et *Monocarboxylate Transporter* (MCT). Ces transporteurs tissus-spécifiques participent à la régulation et effets des HT en fonction du tissu cible (Visser et coll., 2011). La concentration de T3 est indépendante des variations physiologiques ou pathologiques des protéines porteuses à l'inverse de la T4. En effet, une augmentation de T4 peut résulter d'une élévation de la TBG ou inversement pour une diminution de T4, variations induites en particulier par des xénobiotiques dont certains médicaments.

La majorité de T3 (80 %) est produite par déiodination de T4 *via* un processus enzymatique catalysé par les désiodases intracellulaires, D2 et D1 (figures 17.2 et 17.3). Par ailleurs, T4, une pré-hormone (qui n'a pas d'action sur les TR), peut aussi avec T3 être déiodinée en métabolites inactifs ou quasi-inactifs T3 *reverse* (rT3), T2 et T1 suite à l'action de D3 (Dentice et coll., 2013 ; Gereben et coll., 2015). L'expression des 5'-déisodases D1, D2 et D3 est variable dans le temps et selon les organes, ce qui constitue un mécanisme important de modulation de la signalisation des HT (Bianco et Kim, 2006 ; Bianco, 2011 ; Gereben et coll., 2015).

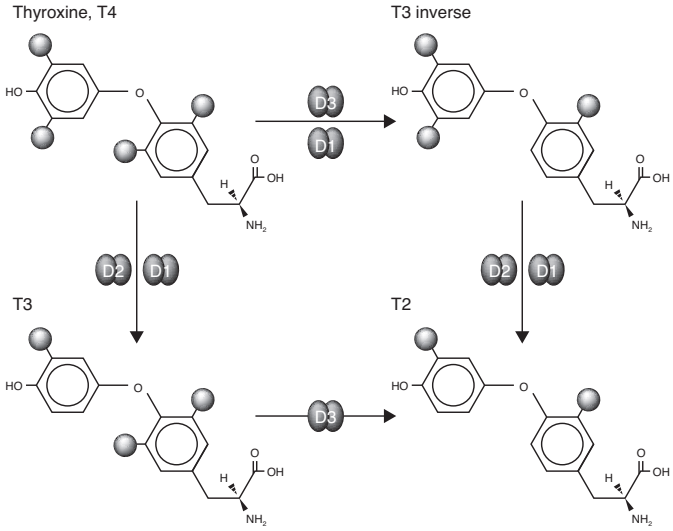


Figure 17.2 : Régulation de l'activité des hormones thyroïdiennes par la déiodation (d'après Bianco et Kim, 2006)

Récepteurs des hormones thyroïdiennes

Les mammifères expriment deux isoformes de TR qui sont codées par les gènes *THRA* et *THRB*, chacune donnant lieu à quatre variantes : TRα1, TRα2, TRΔα1, TRΔα2 et TRβ1, TRβ2, TRβ3, TRΔβ3 (Sirakov et Plateroti, 2011). Chez les vertébrés, T3 est le ligand majoritaire d'une isoforme (TR*a*1) d'un des récepteurs (Tata, 2013 ; Taylor et Heyland, 2017 ; Vella et Hollenberg, 2017). Outre les récepteurs nucléaires, l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, un récepteur et molécule d'adhésion transmembranaire liant la vitronectine (une glycoprotéine sérique), a été identifiée comme récepteur de nombreux ligands incluant les HT (Bergh et coll., 2005).

Les TR sont constitutivement liés à l'ADN au niveau d'éléments de réponse (*Thyroid-Response Elements* ; *TRE*) caractérisés par des variations de répétitions du motif PuGGTCA (Pu pour purine) séparées de 4 pb présents dans des promoteurs de gènes cibles (figure 17.3) ; ils forment des hétérodimères avec le récepteur X de rétinoïdes, inactifs en l'absence de ligands (et recrutant à cet effet, des corépresseurs transcriptionnels). La liaison des HT aux TR nucléaires induit l'activation de l'hétérodimère qui échange ces corépresseurs avec des coactivateurs, permettant l'activation transcriptionnelle

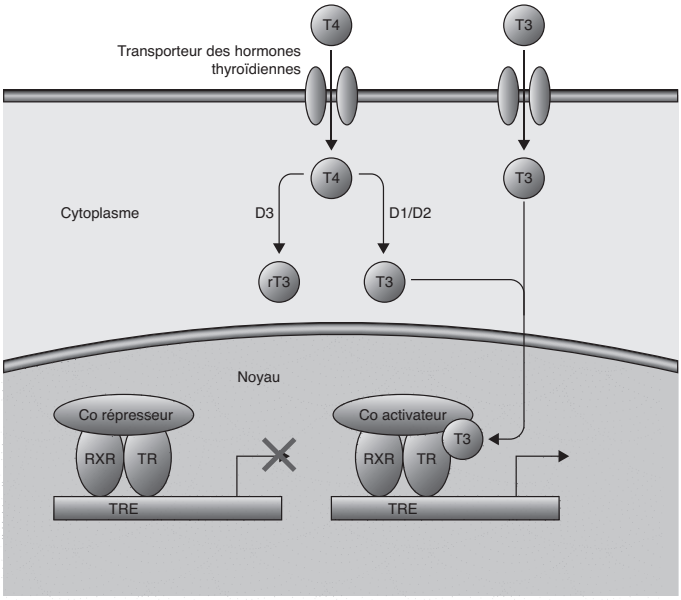


Figure 17.3 : Signalisation nucléaire par les hormones thyroïdiennes (d'après Brent, 2012)
(Figure traduite de l'anglais)

des gènes cibles. Le récepteur TRβ semble principalement impliqué dans le rétrocontrôle de la sécrétion hypophysaire de TSH et dans le développement de l'audition. En revanche, l'invalidation de TRα conduit à une atrophie thyroïdienne avec diminution des taux de TSH et des HT. Certains organes constituent des tissus cibles spécifiques d'un type de récepteur comme l'oreille interne, l'hypophyse, le cœur, le foie, l'os ou l'intestin grêle. Cependant, les TRα et TRβ peuvent coopérer dans certains cas (Flamant et coll., 2007).

Les HT peuvent aussi agir selon une régulation non génomique par liaison à l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, T4 étant le ligand principal, alors que T3 a une action limitée (Davis et coll., 2016 ; Taylor et Heyland, 2017). Les données cristallographiques du récepteur $\alpha_v\beta_3$ révèlent deux domaines de liaison S1 et S2 (Lin et coll., 2011). T3 se lie au domaine S1 et active la PI3K via la kinase Src alors que T3 et T4 se lient au domaine S2 et activent MAPK1 et 2. Les gènes régulés par la liaison des HT à l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ incluent ceux codant pour les récepteurs d'hormones non peptidiques TR et ERα et d'autres codant pour des protéines qui contrôlent l'angiogenèse et qui sont associés au développement tumoral (*FGF2, MMP2, HIFIA, COX2*) (Davis et coll., 2016). Parmi d'autres activités non génomiques des HT, il est rapporté que *i*) T4 module la localisation et l'activité de la désiodase D2, et ainsi la production de T3, en régulant la dynamique du cytosquelette d'actine des astrocytes (Farwell et coll., 1990) ; *ii*) T3 participe à la respiration cellulaire via l'interaction avec le récepteur p43 de la matrice mitochondriale (43-kDa c-ErbAα1) (Casas et coll., 1999) avec pour conséquence une contribution à l'intolérance au glucose et à l'insulino-résistance (Davis et coll., 2016) ; *iii*) T2 participe aux régulations métaboliques via des interactions complexes avec la chaîne respiratoire mitochondriale (Lanni et coll., 2005 ; Davis et coll., 2016).

Métabolisme et excrétion

Les HT sont conjuguées au niveau hépatique et éliminées de la circulation sanguine par voie biliaire. Les voies majeures de métabolisation de phase II sont la sulfonylation par les sulfotransférases (SULT) ou glucuronylation par les uridine diphosphate glucuronyltransférases (UGT). Des transporteurs spécifiques peuvent également prendre en charge les HT conjuguées, par exemple le OATP1B1 pour les sulfoconjugués. L'expression des gènes codant les enzymes du métabolisme hépatique (phases I, II et III) et leur activité sont régulées par de nombreux xénobiotiques. Cette régulation est décrite pour l'activité sulfotransférase (Wang et James, 2006) et glucuronyltransférase (Barter et Klaassen, 1992). Comme des inducteurs d'UGT peuvent

augmenter l'élimination de T4 et non de T3, cette régulation du taux d'hormones libres repose sur l'activité d'isoenzymes différentes pour UGT ou SULT (Visser, 1996).

Pathologies de la thyroïde

Les pathologies qui affectent la glande thyroïde sont multiples, qu'elles soient non tumorales ou tumorales. La thyroïde ayant comme principale fonction celle de produire les hormones thyroïdiennes T4 et T3, les pathologies qui affectent la glande se traduisent fréquemment par des dysfonctionnements hormonaux. Ces dysfonctionnements peuvent conduire à une insuffisance ou absence de synthèse ou de libération des HT se traduisant par un tableau clinique dénommé hypothyroïdie. Dans certains cas l'origine est un déficit de stimulation hypophysaire, c'est-à-dire de TSH (hypothyroïdie centrale). Inversement, ils peuvent conduire à un excès de production ou sécrétion des HT se traduisant par un tableau clinique dénommé hyperthyroïdie.

On distingue l'hypothyroïdie clinique (lorsque des signes cliniques accompagnent une TSH augmentée au-delà de la valeur normale supérieure et une T4 (libre ou totale) abaissée au-delà de la valeur normale inférieure) de l'hypothyroïdie sous- ou infra-clinique (lorsque les signes cliniques sont minimes ou absents, avec une TSH augmentée au-delà de la valeur normale supérieure, et une T4 libre normale). Il en est de même pour l'hyperthyroïdie clinique (qui associe des signes cliniques francs à une TSH effondrée et à une T4 libre et/ou T3 libre augmentées au-delà de la valeur normale inférieure) et l'hyperthyroïdie sous- ou infra-clinique (lorsque les signes cliniques sont minimes ou absents avec une TSH inférieure à la valeur normale et les T4 et T3 libres normales).

L'étiologie des dysthyroïdies est multiple. Des maladies ou affections auto-immunes (dont la thyroïdite de Hashimoto ou la thyroïdite atrophique post-ménopausique), des traitements (iode radioactif pour traiter une hyperthyroïdie, radiothérapie de la tête ou cou, médicaments à base de lithium ou d'antithyroïdiens de synthèse, chirurgie thyroïdienne,...), une dysgénésie thyroïdienne au cours du développement (dont l'hypothyroïdie congénitale), des pathologies hypophysaires ou hypothalamiques ainsi que des carences en iode alimentaire peuvent entraîner une hypothyroïdie. D'autres affections d'origine auto-immune (maladie de Graves-Basedow, thyroïdite du post-partum), des traitements médicamenteux (certains anti-arythmiques comme l'amiodarone), la présence de nodules thyroïdiens hypersécrétants (goitre multinodulaire, adénome) ou des inflammations virales peuvent entraîner

une hyperthyroïdie. Il faut noter que certaines affections peuvent débuter par une hypothyroïdie et évoluer vers une hyperthyroïdie et inversement.

La prévalence et l'incidence des dysthyroïdies varient entre pays en raison des différences des seuils de diagnostic, de la sensibilité des essais, de la consommation d'iode et de la dynamique démographique. Dans les pays avec un apport suffisant en iode, la prévalence de l'hyperthyroïdie clinique est estimée entre 0,2 % et 1,3 %, alors que celle de l'hyperthyroïdie sous-clinique est entre 1 % et 5 % (certaines études incluaient des patients sous lévothyroxine). Concernant les hypothyroïdies franches, la prévalence dans la population générale est estimée à entre 0,2 % et 5,3 % en Europe et entre 0,3 % et 3,7 % aux États-Unis (Taylor et coll., 2018). Plus généralement, une méta-analyse de 17 études européennes a rapporté une prévalence des dysthyroïdies (formes cliniques et sous-cliniques) de 11 %, avec seulement la moitié des patients qui seraient diagnostiqués (Garmendia Madariaga et coll., 2014). En ce qui concerne les données françaises, dans le cadre de l'étude SU.VI.MAX sur la consommation alimentaire et la santé, menée chez des hommes de 45-60 ans et des femmes de 35-60 ans, l'incidence annuelle moyenne des dysthyroïdies était de 267 cas pour 100 000 personnes pour l'ensemble de la population, correspondant à une incidence globale de 2,0 % sur la période de l'étude de 7,5 ans (Estaquio et coll., 2009). Plus récemment, Barry et coll. ont constaté une augmentation de l'incidence des hypothyroïdies congénitales avec glande en place (par opposition aux dysgénésies) en France durant la période 2002-2012, avec des disparités régionales (Barry et coll., 2015).

Plusieurs facteurs de risque des pathologies thyroïdiennes sont reconnus. S'agissant de celles entraînant une hypothyroïdie, on peut citer le sexe féminin, un âge avancé, des antécédents familiaux d'hypothyroïdie, des atteintes auto-immunes (diabète de type 1, maladie cœliaque), des traitements médicamenteux, et la radiothérapie (Vanderpump, 2011 ; Burch, 2019 ; Lin et coll., 2019). La carence en iode reste la principale cause d'hypothyroïdie, mais elle est devenue rare dans les pays développés (Taylor et coll., 2018). S'agissant de celles entraînant une hyperthyroïdie, on peut citer le sexe féminin, des antécédents familiaux d'hyperthyroïdie, notamment la maladie de Graves-Basedow, ou des affections auto-immunes (diabète de type 1, anémie pernicieuse). Le rôle de multiples substances chimiques pouvant perturber l'homéostasie thyroïdienne est de plus en plus suggéré, comme par exemple les ions perchlorates (Leux et Guenel, 2010).

Concernant les pathologies tumorales, chez l'être humain, il existe deux principaux types de cancers thyroïdiens : le cancer papillaire, le plus couramment rencontré, et le cancer folliculaire.

Données des études épidémiologiques

En 2016, Campos et Freire ont réalisé une revue systématique des études épidémiologiques explorant le lien entre les pesticides et la fonction thyroïdienne, et plus spécifiquement sur les pesticides non persistants, qui sont les plus utilisés actuellement depuis que les organochlorés ont été interdits dans la plupart des pays (Campos et Freire, 2016). Malgré une hétérogénéité méthodologique entre les 19 études incluses dans la revue, la plupart montrent des effets sur les niveaux de T3 et T4, et/ou de TSH, et plusieurs révèlent une association entre l'exposition aux pesticides et l'hypothyroïdie. Néanmoins, en raison d'un manque d'ajustement pour les variables confondantes et des méthodes d'échantillonnage peu rigoureuses identifiés dans la majorité des études, les auteurs ont conclu que, dans l'ensemble, la connaissance actuelle restait limitée pour un effet des pesticides sur la thyroïde.

Les résultats de notre analyse de la littérature scientifique sont présentés ci-dessous selon la population concernée : études en milieu professionnel, études en population générale ou riverains.

Exposition aux pesticides en milieu professionnel

De nombreuses études (cohortes ou études transversales essentiellement) ont été réalisées en milieu professionnel. Certaines se sont adressées à des pathologies thyroïdiennes soutenues par un diagnostic médical ou par un profil biologique (notamment les hypothyroïdies et hyperthyroïdies sous-cliniques). D'autres ont étudié les relations entre l'exposition à des pesticides et des variations des concentrations circulantes en HT. Ces dernières ne permettent pas de conclure à une hypothyroïdie ou hyperthyroïdie tant qu'il n'est pas précisé la distribution des HT dans la population d'étude et le pourcentage de sujets qui présentent des concentrations anormales. Quelques études concernent le cancer de la thyroïde. L'ensemble de ces études ont été conduites chez des populations d'applicateurs, d'agriculteurs, d'ouvriers d'usine de pesticides mais aussi chez les conjointes d'agriculteurs, et dans d'autres populations particulières. À notre connaissance, il n'y a pas de méta-analyse sur l'impact de l'exposition professionnelle à des pesticides et la survenue de pathologies de la thyroïde. Les études de cohorte sont présentées dans le tableau 17.I (voir en fin de ce chapitre).

Pathologies de la thyroïde non cancéreuses

- ***Études chez les applicateurs de pesticides – cohorte*** **Agricultural Health Study**

Le lien entre l'utilisation de pesticides et des troubles de la thyroïde a été étudié chez des applicateurs privés dans la cohorte prospective américaine *Agricultural Health Study* (AHS). Les sujets, majoritairement de sexe masculin, ont été interrogés sur la présence d'atteintes compatibles avec une hypothyroïdie clinique (Shrestha et coll., 2018b) ou sous-clinique (Lerro et coll., 2018b), ou une hyperthyroïdie (Shrestha et coll., 2019).

Dans la première étude de Shrestha et coll., l'apparition d'hypothyroïdies rapportées (n = 829) a été évaluée en relation avec l'utilisation de cinquante pesticides différents, à un moment donné du passé, ainsi qu'avec un indicateur d'exposition cumulée (nombre de jours d'utilisation au cours de la vie, pondéré par l'intensité ; variable qui était codée en trois ou quatre catégories selon les effectifs) (Shrestha et coll., 2018b). Cette mesure d'exposition par questionnaire était réalisée au moment de l'inclusion chez 35 150 hommes et femmes avec un suivi de 20 ans. Des analyses de sensibilité ont été réalisées pour évaluer l'impact de l'attrition (nombre de sujets perdus de vue au cours du suivi), qui se sont révélées sans impact sur la mesure de l'association. Dans cette étude, après ajustement sur sexe, âge, région et tabagisme, le risque d'hypothyroïdie était augmenté chez les participants qui avaient déjà utilisé quatre insecticides organochlorés parmi les sept étudiés (aldrine, heptachlore et lindane parmi les participants de plus de 62 ans [âge médian de la population à l'inclusion] ; chlordane chez l'ensemble des participants), quatre insecticides organophosphorés parmi les 9 étudiés (coumaphos chez les plus de 62 ans ; diazinon, dichlorvos, et malathion chez l'ensemble des participants) et trois herbicides parmi les 18 étudiés (dicamba, glyphosate et 2,4-D[65] chez l'ensemble des participants). Les HR allaient de 1,21 ; IC 95 % [1,04-1,41] pour le chlordane à 1,54 ; IC 95 % [1,23-19,4] pour le lindane chez les plus de 62 ans. Les insecticides carbamates (n = 3) et pyréthrinoïdes (n = 2), ainsi que les fongicides (n = 5) et les fumigants (n = 4) étudiés n'étaient pas associés au risque d'hypothyroïdie. En ajustant sur les pesticides corrélés, les associations sont restées significatives pour le chlordane, l'heptachlore, le diazinon et le dicamba. Le risque était le plus important parmi ceux avec la plus forte intensité d'exposition cumulée avec des tendances linéaires pour le chlordane, le lindane, le diazinon, et le coumaphos (chez les plus de 62 ans). Il y avait des tendances ($p \leq 0,2$) pour l'aldrine, le dichlorvos, le fonofos, et la perméthrine, même si les HR n'augmentaient

65. acide 2,4-dichlorophénoxyacétique.

pas toujours de façon monotone en fonction de la catégorie d'exposition aux pesticides. Pour les herbicides, l'augmentation du risque d'hypothyroïdie était observée pour le 2,4-D (p de tendance = 0,01). Il y avait aussi une tendance pour le 2,4,5-T (acide 2,4,5-trichlorophénoxyacetique) parmi les applicateurs les plus âgés (p de tendance = 0,05), même si les HR augmentaient faiblement entre les catégories d'exposition 2 et 3. Même s'il n'y avait pas d'augmentation dose-réponse pour le glyphosate, les HR étaient augmentés dans la 2e (1,27 ; IC 95 % [1,03-1,69]) et 3e catégorie (1,38 ; IC 95 % [1,12-1,69]) d'exposition cumulée, et un peu moins dans la dernière catégorie (1,17 ; IC 95 % [0,94-1,45]). Les résultats de cette étude étaient généralement cohérents avec les précédentes analyses sur le risque d'hypothyroïdie en étudiant les cas prévalents de l'étude AHS ou avec un moindre suivi (Goldner et coll., 2013 ; Lerro et coll., 2018b).

Lerro et coll. ont également publié en 2018 les résultats d'une étude sur 679 hommes applicateurs de pesticides dans l'AHS avec des données biologiques permettant de caractériser plus finement la fonction thyroïdienne (Lerro et coll., 2018b). Cette étude a été réalisée chez des sujets ne déclarant pas de trouble de la thyroïde et ne prenant aucune médication thyroïdienne. Les auteurs ont montré parmi cinquante pesticides différents des associations entre le risque d'une hypothyroïdie sous-clinique (TSH supérieure à 4,5 mIU/l) et l'exposition cumulée au cours de la vie à l'aldrine avec une relation exposition-effet (OR = 4,76 ; IC 95 % [1,53-14,82] pour la catégorie d'exposition la plus élevée) et à l'herbicide pendiméthaline (OR = 2,78 ; IC 95 % [1,30-5,95] pour la catégorie d'exposition la plus élevée). Le captane et l'éthyl-dipropylthiocarbamate étaient eux associés, à la limite de la signification statistique, à une hypothyroïdie sous-clinique (p de tendance respectivement 0,09 et 0,05) et à une augmentation de TSH (p de tendance respectivement 0,05 et 0,04). Le fumigant bromure de méthyle était associé à une diminution de la TSH et augmentation de T4. Une association positive et modeste, mais à la limite de la signification statistique, était observée entre le glyphosate et la TSH (OR = 1,14 ; IC 95 % [0,99-1,33]), ainsi que la trifluraline et la TSH (OR = 1,14 ; IC 95 % [0,97-1,34]) chez les applicateurs dans la catégorie d'exposition la plus élevée alors que ces substances n'étaient pas associées à un risque accru d'hypothyroïdie sous-clinique. Toutes les associations étaient ajustées sur l'âge, la région, l'IMC, le tabagisme et sur les autres pesticides associés au pesticide étudié.

Les deux études ci-dessus sont généralement cohérentes et dans l'ensemble elles confirment les résultats d'une précédente étude menée sur la cohorte AHS, basée sur l'auto-déclaration et avec un moindre suivi (Goldner et coll., 2013), qui a montré que l'exposition des applicateurs à certains pesticides

organochlorés (heptachlore, lindane, et chlordane), organophosphorés (diazinon et malathion) ou herbicides (2,4-D et dicamba) était associée à une augmentation de risque d'hypothyroïdie. Les études récentes n'ont pas confirmé les associations mises en évidence précédemment impliquant le DDT, le toxaphène et le carbofuran, et elles ont fait ressortir des associations modestes entre l'exposition au glyphosate ou à la trifluraline et un risque accru de l'hypothyroïdie.

Une publication par Shrestha et coll. fait état de la relation entre l'utilisation des pesticides par les agriculteurs de l'AHS et la survenue d'hyperthyroïdie rapportée (Shrestha et coll., 2019). Parmi les mêmes 35 150 applicateurs de l'étude présentée ci-dessus (Shrestha et coll., 2018b), 271 ont développé une hyperthyroïdie au cours du suivi. L'analyse par modèle de Cox ajusté sur sexe, éducation, région et tabagisme a mis en évidence que plusieurs pesticides (malathion, manèbe/mancozèbe, dicamba, métolachlore, et atrazine dans l'échantillon complet et le chlorimuron-éthyle chez les moins de 62 ans) étaient associés à une diminution de risque d'hyperthyroïdie. L'association négative la plus forte était observée avec le manèbe/mancozèbe (HR = 0,50 ; IC 95 % [0,30-0,83]). Le risque d'hyperthyroïdie était également plus faible parmi les agriculteurs qui avaient une exposition au cours de la vie pondérée par l'intensité plus importante au carbofuran et chlorpyrifos.

- ***Études chez les femmes d'agriculteurs - cohorte* Agricultural Health Study**

Une étude transversale sur les épouses (n = 16 529) des applicateurs de pesticides dans la cohorte AHS a analysé cinquante pesticides différents appartenant à plusieurs familles chimiques (herbicides, insecticides organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthrinoïdes, fongicides et fumigants) en lien avec les pathologies de la thyroïde (Goldner et coll., 2010). Les participantes étaient classées comme cas lorsqu'elles rapportaient un diagnostic médical. L'exposition était évaluée par questionnaire, avec des questions sur le fait que les épouses elles-mêmes avaient déjà mélangé ou appliqué les pesticides étudiés. Les OR étaient calculés par régression logistique polytomique (absence de pathologie de la thyroïde, hypothyroïdie, hyperthyroïdie ou autres), ajustés sur le niveau d'éducation (études supérieures oui/non), l'âge à l'inclusion (< 45, 46-55, 56-65, > 66 ans), le statut tabagique (jamais, passé, actuel), l'indice de masse corporelle (IMC : < 25 ; 25-29,9 ; > 30 kg/m^2), et la prise de traitement hormonal substitutif (jamais, déjà). Une augmentation du risque d'hypothyroïdie a été mise en évidence en lien avec l'utilisation de pesticides organochlorés sans distinction (OR = 1,2 ; IC 95 % [1,0-1,6]), ainsi que des fongicides sans distinction (OR = 1,4 ; IC 95 % [1,1-1,8]). Les associations étaient plus particulièrement observées

avec le chlordane, les fongicides bénomyl, manèbe et mancozèbe et l'herbicide paraquat. Concernant les hyperthyroïdies, le manèbe et mancozèbe, membres de la famille des dithiocarbamates, étaient les seuls également associés avec un risque augmenté d'hyperthyroïdie (OR = 2,3 ; IC 95 % [1,2-4,4]). Il n'y avait pas d'association avec l'utilisation par le passé d'herbicides, de fumigants, ou d'insecticides de la famille des organochlorés, organophosphorés, carbamates ou pyréthrinoïdes.

Cette même population a par la suite été étudiée de manière longitudinale sur une période de 20 ans, au cours de laquelle ont été recensés 1 627 cas incidents d'hypothyroïdie et 531 d'hyperthyroïdie (Shrestha et coll., 2018a). Une validation interne montrait que la qualité des informations recueillies par auto-déclaration était meilleure pour l'hypothyroïdie que pour l'hyperthyroïdie (confirmées par les dossiers médicaux respectivement pour 91 % et 32 % des cas). Pour les fongicides sans distinction, les auteurs mettaient en évidence une augmentation du risque d'hypothyroïdie, avec un HR (ajusté sur l'éducation, lieu de résidence et le tabagisme) de 1,26 ; IC 95 % [1,02-1,54]. Des associations statistiquement significatives ont été retrouvées en particulier pour le bénomyl, le manèbe/mancozèbe, et le métalaxyl. Un risque élevé d'hypothyroïdie était également observé en lien avec la pendiméthaline après ajustement sur d'autres pesticides corrélés (HR = 1,77 ; IC 95 % [1,19-2,62]), et parmi les plus de 60 ans, pour le parathion (HR = 2,44 ; IC 95 % [1,43-4,16], 14 cas exposés) et la perméthrine (HR = 1,68 ; IC 95 % [1,01-2,82]). Par ailleurs, l'insecticide phorate, et les herbicides imazéthapyr et métolachlore étaient associés à une diminution de risque d'hypothyroïdie, tandis qu'aucun lien n'a été retrouvé pour le glyphosate (HR = 1,07 ; IC 95 % [0,95-1,20]). L'insecticide diazinon (HR = 1,35 ; IC 95 % [1,05-1,73]), les fongicides manèbe et mancozèbe (HR = 1,74 ; IC 95 % [1,05-2,88]), et l'herbicide métolachlore (HR = 2,01 ; IC 95 % [1,17-3,44]) étaient associés à un risque augmenté d'hyperthyroïdie, tandis qu'une diminution du risque a été observée pour l'herbicide trifluraline.

- ***Études transversales chez les agriculteurs ou travailleurs agricoles***

De nombreuses études, pour la plupart de nature transversale, se sont intéressées à des associations avec les concentrations sériques d'hormones thyroïdiennes et de TSH en absence de diagnostic clinique de pathologie thyroïdienne.

Une étude en Thaïlande a comparé les niveaux d'hormones thyroïdiennes chez des agriculteurs travaillant en agriculture biologique (n = 222) ou traditionnelle (n = 195) (Kongtip et coll., 2019). Le type et la quantité de pesticides utilisés étaient demandés à ceux travaillant dans l'agriculture

traditionnelle. Les niveaux de TSH, T3 libre, T3 et T4 des agriculteurs traditionnels étaient environ 1,6, 1,2, 1,3 et 1,1 fois plus élevés que ceux de l'agriculture biologique. Ces résultats peuvent s'expliquer par les taux d'hormones thyroïdiennes au-dessous des valeurs de référence chez les agriculteurs biologiques mais les auteurs ont noté que ces différences pourraient également s'expliquer par des effets d'âge ou de genre. En regardant les associations avec des pesticides spécifiques, les auteurs ont mis en évidence des associations, uniquement positives, entre la quantité appliquée de plusieurs herbicides dans le passé et le niveau d'hormones thyroïdiennes, après ajustement sur les variables associées aux hormones thyroïdiennes : sexe, tabagisme actuel, consommation d'alcool actuelle, utilisation de pesticides au domicile durant l'année précédente, niveaux de triglycérides et stress dans les 2 à 4 dernières semaines. Les substances actives analysées étaient le paraquat (associé à une augmentation de TSH, T3 libre et T3), l'acétochlore (T4 libre), l'atrazine (TSH, T3 libre et T3), le glyphosate (T4) ; le diuron (TSH) et une catégorie « autres herbicides » qui incluait l'alachlore, le propanil, et le butachlor (FT4 et T3). Les produits les plus utilisés dans cette étude étaient le glyphosate, le paraquat et le 2,4-D.

Une étude transversale récente chez 275 résidents d'une ferme au Brésil suggérait qu'à la fois une exposition professionnelle aiguë et chronique était associée à une augmentation des niveaux de TSH chez les ouvriers agricoles masculins (Piccoli et coll., 2016). Dans cette population, le mancozèbe et le sulfate de cuivre étaient les fongicides les plus fréquemment utilisés, et le glyphosate et le paraquat étaient les deux herbicides rapportés comme les plus fréquemment utilisés. L'exposition au cours de la vie aux fongicides, herbicides et dithiocarbamates était associée à l'augmentation de la TSH et la diminution de la T4 libre, plus particulièrement chez les hommes, avec une relation exposition-effet monotone. En revanche, le travail à la ferme et l'exposition globale à tous pesticides au cours de la vie étaient associés à une baisse de TSH et respectivement à une augmentation des T3 totale et T4 libre. Les auteurs retrouvaient peu d'associations chez les femmes. Les associations avec les biomarqueurs de pesticides étaient faibles et peu consistantes. Après ajustement sur le sexe, l'âge, l'IMC, le tabagisme et la consommation d'alcool, parmi les nombreux métabolites de pesticides testés, la détection de γ-chlordane était associée positivement à la concentration de TSH en log (β = 1,25 [1,01-1,54]) et au log de la concentration en T3 (β = 1,06 [1,01-1,11]), la dieldrine négativement au log de la concentration en T4 libre (β = 0,92 [0,86-0,99]). Des pesticides en nombre plus important étaient associés au niveau de T3 soit positivement (γ-chlordane, β-HCH, époxyde d'heptachlore [un métabolite d'heptachlore], *trans*-nonachlore, p,p'-DDE, endosulfan II) soit négativement (endrine, heptachlore).

D'autres études transversales, reposant sur un plus faible nombre d'effectifs, ont également trouvé des associations entre l'exposition professionnelle aux pesticides et des signes cliniques et biologiques d'hypothyroïdie. C'est le cas des applicateurs (n = 63) de fongicides de la famille des éthylène bis-dithiocarbamates (EBDC) au Mexique (Steenland et coll., 1997), des travailleurs de la banane aux Philippines (n = 88) exposés aux EBDC et autres fongicides (chlorothalonil, propanil, et bitertanol) utilisés en même temps ou en alternance avec ce dernier (Panganiban et coll., 2004), et travailleurs dans des serres (n = 108) en Roumanie (Simescu et coll., 2014).

Une étude au Mexique a rapporté une association positive entre les taux urinaires de dialkylphosphates (DAP ; métabolites des pesticides organophosphorés et marqueurs indirects d'exposition à ces composés) et des perturbations des taux sériques d'hormones thyroïdiennes (augmentation de TSH et T4, baisse de T3) chez des hommes (n = 136) travaillant en floriculture (Lacasaña et coll., 2010a). Les auteurs ont montré par la suite que ces effets sont déterminés par l'activité de la paraoxonase, une enzyme intervenant dans l'hydrolyse des organophosphorés (Lacasaña et coll., 2010b). Blanco-Munoz et coll. ont exploré le lien entre les taux sériques de p,p'-DDE et les hormones thyroïdiennes dans cette même population (Blanco-Munoz et coll., 2016). Une association positive a été retrouvée entre le p,p'-DDE et les concentrations de T3 et de T4 totales avec une relation exposition-effet, mais sans effet sur la TSH.

Une étude portant sur 96 agriculteurs de la bande de Gaza a mis en évidence une élévation des niveaux de TSH et une diminution des T3 et T4 par comparaison à un groupe de témoins de même effectif non exposés aux pesticides et appariés sur l'âge (Al-Shanti et Yassin, 2017). Aux États-Unis, 144 applicateurs de pesticides avaient également des niveaux de TSH plus élevés que 49 témoins urbains, ainsi que des variations saisonnières non observées chez ces derniers (Garry et coll., 2003).

Une étude chez 122 agriculteurs danois a examiné les variations saisonnières des taux sériques des hormones thyroïdiennes chez des sujets travaillant dans des serres. Une analyse transversale des données a montré que la pulvérisation plus importante de pesticides pendant l'été, pour une période de trois mois, était associée à une diminution mineure de T4 libre en automne. Cette association était également constatée au printemps, ce qui pourrait s'expliquer par le fait que les travailleurs des serres sont exposés aux différents pesticides tout au long de l'année. Une analyse longitudinale a montré une diminution de TSH et une augmentation de T3 (totale et libre) et de T4 libre en automne. Les auteurs notent que cet effet saisonnier, qui est à l'inverse de celui attendu étant donné que l'été et l'automne sont des périodes

de forte utilisation de pesticides, ne montre pas une relation exposition-effet et pourrait s'expliquer par des raisons autres que l'exposition aux pesticides (Toft et coll., 2006).

Dans une étude au Pakistan sur 88 exposés à la culture du coton et 88 témoins appariés sur l'âge et le sexe, des différences hormonales étaient retrouvées et en particulier une baisse des niveaux de T4 libres sériques chez les cueilleurs de coton, mais pas chez les applicateurs de pesticides (Khan et coll., 2013).

Bien que les troubles de la thyroïde chez les agriculteurs aient été constatés dans de nombreuses études, d'autres en revanche n'ont pas montré de tels effets. Une étude au Cameroun n'a pas retrouvé de différence dans les taux des hormones thyroïdiennes entre 47 hommes exposés aux pesticides et 37 témoins (Manfo et coll., 2012). Dans une étude analysant la fonction de reproduction chez des agriculteurs vénézuéliens, aucune différence dans les taux sériques de T4 libres et de TSH n'a été retrouvée entre les hommes (n = 64) exposés aux organophosphorés et aux carbamates par rapport à 35 témoins non exposés (Miranda-Contreras et coll., 2013).

- ***Études dans des populations sensibles – exposition* in utero**

Des femmes travaillant dans des serres et exposées pendant leur grossesse à des pesticides non persistants ou en combinaison (potentiellement plus de 100 substances actives différentes) ont été incluses dans une cohorte danoise entre 1996 et 2000. Sur les 247 enfants nés de ces mères, des dosages sanguins ont été réalisés sur 90 et 55 enfants respectivement classés comme exposés ou non exposés. L'exposition prénatale était associée à une baisse des concentrations de TSH chez les enfants entre 6 et 11 ans, après ajustement sur l'IMC en plus du changement dans la composition corporelle. La différence de *z*-scores de TSH était - 0,66 [- 1,29 ; - 0,02] chez les enfants de 6-11 ans nés de mères exposées par rapport au groupe d'enfants nés de mères non exposées (Wohlfahrt-Veje et coll., 2011).

- ***Études chez d'autres professionnels***

Les associations entre p,p'-DDE (un métabolite du DDT) et concentrations circulantes d'hormones thyroïdiennes ont également été étudiées dans des populations de pêcheurs ou capitaines de bateaux. L'hypothèse était que leurs activités et habitudes de consommation amenaient ces professionnels à être plus fortement exposés aux polluants organiques persistants (y compris les pesticides) que la population générale. En 2000, dans une population de près de 200 pêcheurs suédois de la mer baltique, Rylander et coll. ont rapporté une association positive entre le p,p'-DDE et la concentration de TSH (Rylander et coll., 2006). Une augmentation de 100 ng/g lipides de p,p'-DDE

correspondait à une augmentation de 0,03 mU/l (IC 95 % [0,01-0,05]) de TSH, après ajustement sur l'âge. Lorsque l'exposition était catégorisée, l'association semblait être liée au dernier quartile (β = 0,33 ; IC 95 % [- 0,08 ; 0,73]), alors qu'elle était plutôt négative pour les quartiles 2 et 3. Chez 56 capitaines de bateaux consommateurs ou non de poissons des Grands Lacs d'Amérique du Nord, Turyk et coll. observaient une corrélation négative, mais non statistiquement significative, entre les taux sériques de DDE et de T4 (r = - 0,26 ; p = 0,09) ou de TSH (r = - 0,25 ; p = 0,09) après ajustement sur l'âge, l'IMC, et la prise de médicaments antilipémiants, antihypertenseurs, et anti-inflammatoires non stéroïdiens (Turyk et coll., 2006). Herin et coll., dans une étude portant sur 159 travailleurs d'une usine française de médicaments vétérinaires contenant du fipronil, ont constaté une corrélation négative entre la concentration plasmatique en fipronil sulfone et le taux de TSH dans des analyses non ajustées, mais sans effet sur le taux de T4 totale ou libre (la T3 n'a pas été analysée) (Herin et coll., 2011).

Trois études ont porté sur des ouvriers d'usines de pesticides. Une étude au Royaume-Uni a examiné les taux sériques des HT chez des travailleurs dans deux usines de production ou de formulation d'éthylène thiourée (ETU), un métabolite de l'EBDC. Les travailleurs qui formulaient l'ETU (n = 5), qui étaient plus exposés à la substance par leur poste, avaient une diminution de T4 totale (et chez 1 sujet seulement, une augmentation de TSH) par rapport à des témoins travaillant dans ces mêmes usines qui ne manipulaient pas la substance. Aucune différence n'était observée chez les producteurs (n = 8) par comparaison à leurs témoins appariés (Smith, 1984). Une étude portant sur des travailleurs (n = 30) d'une usine de fabrication de pesticides en Inde a comparé les taux sériques des HT dans cette population à ceux de 20 sujets en population générale. Les travailleurs exposés à plusieurs pesticides (endosulfan, quinalphos, chlorpyrifos, monocrotophos, lindane, parathion, phorate, fenvalérate) avaient une baisse de T3 totale et une augmentation non statistiquement significative de TSH (Zaidi et coll., 2000). Une étude menée en Nouvelle-Zélande a montré que des producteurs de pesticides les plus exposés à la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD) par leur poste, avait une baisse de la T4 libre ('t Mannetje et coll., 2018). Enfin, cette même équipe a précédemment montré, dans un cadre professionnel différent, une augmentation de risque non significative des troubles thyroïdiens (sans précision) en lien avec l'exposition au pentachlorophénol chez les employés (n = 293) d'une scierie (McLean et coll., 2009).

Cancer de la thyroïde

Dans une étude réalisée sur les épouses des applicateurs de pesticides de l'AHS, Lerro et coll. ont rapporté que, parmi les pesticides organophosphorés étudiés, l'exposition au malathion était associée au risque de cancer de la thyroïde (RR = 2,04 ; IC 95 % [1,14-3,63]) (Lerro et coll., 2015). En Norvège, à partir de registres recensant 236 646 personnes faisant partie de familles d'agriculteurs, les auteurs n'ont pas mis en évidence de lien entre un indicateur d'exposition au mancozèbe et le risque de cancer de la thyroïde (Nordby et coll., 2005). Dans une étude cas-témoins (près de 500 cas et 500 témoins) sur le cancer de la thyroïde aux États-Unis, utilisant une matrice emploi-exposition, aucune association n'était observée en lien avec l'exposition professionnelle aux pesticides (Zeng et coll., 2017). Enfin, aucun lien robuste n'était retrouvé entre cancer (tout site, dont thyroïde) et l'atrazine dans la cohorte AHS qui incluait 57 310 applicateurs de pesticides dont 68 % avaient rapporté une application de l'atrazine (Freeman et coll., 2011), excepté pour le cancer de la thyroïde, pour les sujets dans les 2e (RR ajusté = 4,55 [1,27-16,24]) et 4e (RR ajusté = 4,84 [1,31-17,93]) quartiles d'exposition définie comme le nombre de jours pondéré par l'intensité d'exposition, mais le nombre de cas total exposés était faible (n = 29). En Allemagne, dans une usine d'herbicides, Nasterlack et coll. n'ont pas trouvé d'association avec le risque de cancer de la thyroïde parmi 185 sujets d'une étude de cohorte rétrospective, en comparant selon le poste de production de benzothiadiazine et en couplant à un suivi médical additionnel (Nasterlack et coll., 2007).

Exposition aux pesticides en population générale

Les études en population générale s'intéressent essentiellement aux variations des niveaux d'hormones thyroïdiennes (TSH, T4, T3...) et certaines utilisent des biomarqueurs comme indicateur de l'exposition, principalement des organochlorés.

Études en population : effectifs les plus importants

L'association entre le DDE, métabolite du DDT (pesticides organochlorés), et les hormones thyroïdiennes a été étudiée par Turyk et coll. dans deux cycles des enquêtes transversales américaines NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*), chez des sujets indemnes de pathologie thyroïdienne (Turyk et coll., 2007). Après prise en compte du schéma d'échantillonnage et ajustement sur la concentration sérique en lipides, l'IMC, l'ethnie, l'âge, le logarithme de la concentration sérique de cotinine (un

métabolite de la nicotine utilisé comme mesure d'exposition au tabagisme), le statut ménopausique chez les femmes, et la prise de médicament (furosémide, VIH, bétabloquants, normo-glycémiants et autres médicaments), les auteurs ont rapporté une association entre le logarithme népérien de p,p'-DDE sérique, et l'augmentation de T4 chez les femmes de moins de 60 ans (β = 0,33 ; IC 95 % [0,04-0,62], n = 219), et une diminution de T4 et augmentation de TSH chez les femmes de plus de 60 ans (respectivement, β = - 0,47 (IC 95 % [- 0,74 ; - 0,20], n = 131 et 0,23 ; IC 95 % [0,04-0,42], n = 126). Les résultats n'étaient cependant pas retrouvés dans les deux cycles d'échantillonnage (1999-2000 ou 2001-2002). Chez les hommes, les auteurs ne montraient pas d'association statistiquement significative. Il est à noter que dans une population de plus de 1 000 adultes thaïlandais, aucune association n'était retrouvée entre les taux sériques de p,p'-DDT ou de p,p'-DDE et les niveaux de TSH ou de T4 (Teeyapant et coll., 2014).

Dans l'étude transversale NHANES également, l'association entre le 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPy ; métabolite urinaire du chlorpyrifos et du chlorpyrifos-méthyl) ainsi que des pesticides organophosphorés non persistants, et hormones thyroïdiennes a également été étudiée (Fortenberry et coll., 2012). Dans cette étude sur plus de 3 000 sujets de plus de 12 ans, les auteurs ont mis en évidence chez les hommes de moins de 40 ans une relation entre un interquartile de la mesure du biomarqueur et une augmentation des T4 en µg/dl (β = 3,00 ; IC 95 % [- 0,81 ; 6,82] chez les 18-40 ans, n = 506) et une diminution de TSH (β = - 10,7 ; IC 95 % [- 18,7 ; - 2,05] aux mêmes âges), après ajustement sur la créatinine urinaire, la cotinine sérique, l'IMC, l'âge, l'ethnie et le revenu. Chez les femmes, on observait une augmentation de TSH avec l'exposition à tous les âges, mais plus fortement chez les plus âgées (β = 21,5 ; IC 95 % [3,37 ; 42,8], n = 218). Les résultats suggéraient donc des modifications hormonales en fonction de l'exposition, mais ne semblaient pas homogènes selon l'âge et le sexe.

Les concentrations urinaires d'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), métabolite commun à plusieurs pyréthrinoïdes (cyperméthrine, deltaméthrine… mais pas à la cyfluthrine), chez 6 500 adultes coréens étaient 3 fois plus élevées qu'au Canada ou aux États-Unis et étaient associées négativement aux T4 et T3 totales (Hwang et coll., 2019). Cette association était surtout constatée chez les hommes.

En résumé, les études en population générale avec des effectifs importants ne permettaient pas de conclure de manière certaine à une association entre l'exposition à des pesticides et des variations cohérentes des concentrations circulantes en hormones thyroïdiennes.

Autres études chez des populations d'effectifs plus réduits

Dans une population de 123 femmes indiennes, Rathore montrait une diminution de T4 et une augmentation de TSH, en fonction de la concentration de dieldrine (Rathore et coll., 2002). Dans une petite population de sportifs (n = 66), le hexachlorobenzène (HCB) était également associé négativement (mais non significativement) avec la concentration en T4 (Bloom et coll., 2003). Chez 16 obèses ayant perdu du poids, les augmentations de concentration en DDT et HCB observées étaient associées négativement au niveau de T3 (Pelletier et coll., 2002), cela était également observé pour plusieurs PCB. Dans une étude transversale slovaque chez 454 adultes, la somme d'organochlorés (PCB, DDE et HCB) était associée sans ajustement à une diminution de TSH (Langer et coll., 2006).

Meeker et coll., chez 341 hommes recrutés dans un centre d'infertilité, retrouvaient une association positive entre p,p'-DDE et hormones thyroïdiennes (T3 totale, T4 libre) et négative avec la TSH (Meeker et coll., 2007), ainsi qu'une association négative entre HCB et T3 totale plus forte après prise en compte du niveau de p,p'-DDE. Dans leur population de plus de 300 hommes recrutés dans un centre d'infertilité (n = 322 ici), Meeker et coll. ont également exploré le lien entre les concentrations circulantes en hormones thyroïdiennes et l'exposition à des insecticides non persistants : le TCPy (pour rappel, un métabolite du chlorpyrifos et du chlorpyrifos-méthyl), et le 1-naphthol (un métabolite du carbaryl et du naphtalène). Après ajustement sur l'âge, l'IMC, le tabagisme et la saison, ils ont retrouvé une association positive entre le TCPy et la TSH et une relation négative avec la T4 libre (Meeker et coll., 2006). Dans un sous-groupe de cette même population (n = 161), les auteurs ont également montré une diminution de la T3 avec une augmentation des concentrations urinaires de *cis*-DCCA[66], métabolite de pyréthrinoïdes (Meeker et coll., 2009).

Dans un article utilisant les données de l'étude NHANES et qui étudie globalement le métabolisme glucidique et lipidique, chez 727 sujets sains, une association positive était retrouvée entre le 2,4-D et les niveaux de TSH, plus particulièrement chez les sujets avec des niveaux de T4 « bas » (en dessous de la médiane de 8,5 µg/dl), considérés comme population sensible (Schreinemachers, 2010).

Enfin, concernant l'exposition aux pesticides et le risque de cancer de la thyroïde en population générale, une étude cas-témoins nichée dans une cohorte norvégienne (Lerro et coll., 2018a) a rapporté une association négative en lien avec le DDT et une association positive pour le chlordane chez

66. acide cis-3-[2,2-dichlorovinyl]-2,2-diméthylcyclopropane-1-carboxylique.

les sujets les plus jeunes (métabolites du chlordane, OR pour 10 ng/g de lipides = 1,78 ; IC 95 % [1,09-2,93]).

Études chez les femmes enceintes et les nouveau-nés

L'étude la plus récente portant sur une population de femmes enceintes n'a trouvé aucune relation entre l'exposition aux pesticides organophosphorés et les concentrations en hormones thyroïdiennes chez la mère (n = 715) et dans le sang de cordon (n = 482) dans la cohorte prospective GENERATION R (Mulder et coll., 2019). Les concentrations de six métabolites urinaires de DAP ont été mesurées à 3 reprises pendant la grossesse (< 18, 18-25, et > 25 semaines de gestation) et étaient 2 à 3 fois plus importantes que dans la plupart des autres cohortes de naissance au Canada, aux États-Unis, et en Europe. La TSH et la T4 libre ont été mesurées dans le sang maternel et de cordon. La T4 totale et les anticorps TPO ont également été mesurés chez la mère. Aucune information n'était disponible sur le moment du recueil urinaire (premières urines ou échantillons aléatoires recueillis entre 8 h et 20 h), alors que les concentrations de substances chimiques, le volume d'urine, et le taux d'excrétion varient en fonction notamment de la prise de boissons, du moment de la journée (Boeniger et coll., 1993 ; Cornelis et coll., 1996 ; Barr et coll., 2005). Si, comme le disent les auteurs, cela n'est pas susceptible d'entraîner un biais de confusion, puisque les T4 libres n'ont pas de rythme circadien et la TSH varie surtout entre le jour et la nuit (Ehrenkranz et coll., 2015), cela peut en revanche entraîner un biais de classement non différentiel susceptible de réduire les associations vers une absence d'association, et cela n'est pas commenté. À cela s'ajoute que les mesures urinaires de polluants peu persistants ne reflètent pas forcément de manière optimale l'exposition, les coefficients de corrélation intra-classe étant modestes. L'utilisation d'un nombre plus important d'échantillons par femme pourrait permettre de pallier cette limite. Enfin, les mêmes auteurs ont montré précédemment que l'exposition à des pesticides organophosphorés pendant la grossesse survient probablement par voie alimentaire, avec l'ingestion de fruits essentiellement (van den Dries et coll., 2018). Un repas incluant beaucoup de fruits et légumes, les noisettes et poisson n'est donc pas seulement une source d'éléments sains comme le sélénium, l'iode et le fer, mais peut aussi être une source de pesticides organophosphorés. Ces micronutriments sont importants pour la fonction thyroïdienne et pourraient contrecarrer les effets de l'exposition aux pesticides organophosphorés et atténuer des associations avec ces substances dans des études épidémiologiques. Cependant, dans l'étude ci-dessus (Mulder et coll., 2019), les résultats n'étaient pas modifiés après ajustement sur la consommation de fruits comme proxy d'un repas sain.

Chez 157 femmes enceintes espagnoles (Lopez-Espinosa et coll., 2009), celles qui avaient des concentrations sériques de p,p'-DDE plus élevées étaient plus souvent celles qui avaient des niveaux élevés de TSH au-dessus de 2,5 mIU/l (OR = 2,53 ; IC 95 % [1,36-4,73] p = 0,004), et des niveaux plus faibles de T4 libre (β = - 0,03 ; IC 95 % [- 0,05-0,00] p = 0,05) après ajustement sur l'âge maternel et les semaines de gestation au moment du prélèvement, les lipides totaux et d'autres variables si elles modifiaient la relation de plus de 10 % (tabagisme et consommation de caféine pour la TSH et pays de naissance, statut professionnel, cohabitation, consommation de caféine pour la T4 libre). Chez 334 femmes enceintes dans la cohorte prospective CHAMACOS (*Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas*) les concentrations de HCB (mais pas de DDT ou de DDE) étaient associées négativement avec les mesures de T4 totale (β = - 0,51 ; IC 95 % [- 0,97 ; - 0,04]) et de T4 libre (β = - 0,08 ; IC 95 % [- 0,15 ; - 0,01]) après prise en compte de l'âge et de l'IMC maternel préconceptionnel (Chevrier et coll., 2008). Une relation négative entre trois pesticides organochlorés (p,p'-DDE, *cis*-nonachlore, et HCB) et T3 dans le sang maternel a également été retrouvée chez 150 femmes enceintes en bonne santé au Québec (Takser et coll., 2005). Aucune association n'a été retrouvée avec les hormones mesurées dans le sang de cordon. En revanche, deux autres études retrouvaient des associations entre l'exposition *in utero* et les paramètres thyroïdiens mesurés. Chez 115 nouveau-nés chinois (Luo et coll., 2017), certains pesticides organochlorés tendaient à être associés négativement avec les T4 (HCH, DDE, méthoxychlore) et à une augmentation des niveaux de TSH (aldrine, dieldrine, DDT) après ajustement sur âge maternel, niveau d'éducation, revenu du foyer, parité, et sexe du nouveau-né. L'association la plus nette étant la relation entre TSH et aldrine. Dans une population d'un peu moins de 100 nouveau-nés coréens (effectifs variables selon les associations), les auteurs rapportaient une association négative entre la T4 totale et l'HCB, une tendance négative entre T3 et p,p'-DDE et une relation positive entre TSH et p,p'-DDE (dans le sang 2 jours après la naissance) et la somme des chlordanes, dans le sang de cordon (Kim et coll., 2015).

Dans une étude transversale plus récente où les niveaux d'expositions étaient élevés, la somme de biomarqueurs urinaires de pesticides organophosphorés était associée chez 325 femmes enceintes à une augmentation des T4 libres et à une diminution de la TSH après ajustement sur le revenu du foyer et le tabagisme pendant la grossesse et prise en compte de la créatinine urinaire (Wang et coll., 2017b). L'exposition aux pyréthrinoïdes (par le métabolite 3-PBA) a été mesurée au 1er trimestre de grossesse dans les urines d'un échantillon de femmes enceintes japonaises (n = 231) ; aucune association n'était retrouvée avec les concentrations de TSH et T4 chez les mères (Zhang et coll., 2013a) comme chez les nouveau-nés (Zhang et coll., 2014a).

Dans une étude en Chine sur 247 couples mères-enfants, sur 11 pesticides organochlorés, 3 étaient détectés dans plus de 50 % des cas à la fois chez la mère et l'enfant, et une association était rapportée entre la concentration en HCB dans le sang de cordon et une diminution de la TSH (Li et coll., 2014). Dans une autre étude chinoise, portant sur 374 femmes enceintes habitant au Shandong, le 3-PBA (un métabolite des pyréthrinoïdes) a été détecté dans la majorité des échantillons d'urines testés (90,4 %) à une concentration médiane de 1,14 mg/g de créatinine (Hu et coll., 2019). Une association négative entre ce biomarqueur et les niveaux sériques de T3 libres a été mise en évidence, avec une relation effet-dose, alors qu'aucune association n'a été constatée avec les autres hormones thyroïdiennes. Dans une étude coréenne portant sur 59 paires mères-nouveau-nés, les niveaux de fipronil sulfone dans le sang de cordon à la naissance (qui représentent l'exposition intra-utérine) étaient inversement associés au niveaux de T3 totale et libre, y compris après ajustement sur un grand nombre de facteurs de confusion potentiels (Kim et coll., 2019). Les niveaux de T4 totale et libre et de TSH dans le sang de cordon des nouveau-nés n'étaient pas corrélés avec le fipronil sulfone. Chez 220 nouveau-nés garçons espagnols (Freire et coll., 2011), sur 17 pesticides organochlorés mesurés dans le placenta, il y avait également une tendance à une association négative entre HCB et TSH dans le sang de cordon, et une association négative également avec l'endosulfan, tandis que l'endrine et dans une moindre mesure le p,p'-DDE étaient associés plutôt positivement à la TSH. Dans le sang de cordon de 198 nouveau-nés belges, on retrouvait des concentrations réduites de T3 et T4 libres en fonction du niveau de substances organochlorés (dont HCB, p,p'-DDE) chez la mère (Maervoet et coll., 2007). Plusieurs pesticides organochlorés (p,p'-DDT, p,p'-DDE, β-HCH et HCB) étaient associés à une diminution des concentrations d'hormones thyroïdiennes (T3) également chez des enfants de 4 ans (n = 259) en Espagne (Alvarez-Pedrerol et coll., 2008). En revanche, l'association était retrouvée positive avec de nombreux organochlorés (y compris β-HCH, HCB, p,p'-DDE, chlordane, dieldrine) chez des enfants de 0-15 ans (n = 193) au Brésil (Freire et coll., 2012), selon les auteurs les expositions élevées pourraient expliquer ces résultats en contradiction avec la littérature. Les niveaux de T4 libres étaient associés positivement également avec p,p'-DDD, endosulfan I, et dieldrine. Dans une petite étude en Thaïlande de 39 couples mères-enfants, le niveau de T4 dans le sang de cordon était associé négativement au DDT et à ses métabolites p,p'-DDE, p,p'-DDT et o,p'-DDE (Asawasinsopon et coll., 2006). Et toujours chez des couples mères-enfants, à nouveau dans une petite population de 34 cas d'hypothyroïdie congénitale et 102 témoins, au Japon, les pesticides organochlorés contenus dans le lait (DDT, HCH, chlordane, HCB et leurs

métabolites) ont été mesurés comme marqueurs d'exposition prénatale (Nagayama et coll., 2007). Des associations positives en lien avec le risque de crétinisme étaient montrées avec le DDT et l'HCB, après ajustement sur la parité et l'âge. Chez 111 jeunes enfants en Guadeloupe, le chlordécone, mesuré dans le sang de cordon, était associé à une augmentation de TSH à 3 mois uniquement chez les garçons et sans modification de la T3 libre ou de la T4 libre. Lorsque le chlordécone était mesuré dans le lait maternel, une association positive avec la TSH à 3 mois a été observée uniquement chez les filles et accompagnée d'une diminution de T4 libre. Dans tous les cas, les concentrations circulantes en hormones thyroïdiennes se trouvaient dans le rang des valeurs attendues à l'âge de 3 mois. De plus, ces variations hormonales n'expliquaient pas les moins bons scores estimant la motricité fine à 18 mois d'âge en lien avec l'exposition prénatale au chlordécone (Cordier et coll., 2015).

Chez des nouveau-nés participant à une étude en Afrique du Sud, prendre en compte le sexe et la pauvreté modifiaient les associations entre les concentrations maternelles en DDT/DDE ou métabolites de pyréthrinoïdes et les niveaux d'hormones thyroïdiennes (Chevrier et coll., 2019). Tous les métabolites de pyréthrinoïdes étaient positivement associés à la TSH ; le *trans*-DCCA et le 3-PBA étaient les plus fortement associés avec un changement de 12,3 % (IC 95 % [3,0-22,3]) et 14,0 % (IC 95 % [0,50-30,2]) pour chaque augmentation par 10 des concentrations en biomarqueur. Ces associations étaient plus élevées chez les enfants de foyers en dessous du seuil de pauvreté. Les DDT et DDE étaient associés à des niveaux plus faibles de T4 totale seulement chez les garçons (β = - 0,27 µg/dl pour une augmentation par 10 de l'exposition ; IC 95 % [- 0,47 ; - 0,04]).

Exposition aux pesticides des populations riveraines des zones agricoles ou industrielles

Pathologies de la thyroïde non cancéreuses

Requena et coll. ont examiné si l'exposition environnementale continue aux pesticides chez des personnes habitant à proximité de zones d'agriculture intensive en Andalousie (Espagne) était associée à une plus grande prévalence et un risque plus important de pathologies thyroïdiennes sur 18 ans de suivi (Requena et coll., 2019). Au total, 80 132 individus ont été diagnostiqués avec des désordres thyroïdiens divers (goitre, hypothyroïdie, thyrotoxicose et thyroïdite). Les auteurs ont trouvé une augmentation de 49 % du risque d'hypothyroïdie dans les zones où les pesticides étaient davantage utilisés après ajustement sur l'âge et le sexe. Cette étude a mis en évidence

une augmentation modeste du risque de goitre (11 %) chez les sujets vivant dans les régions avec une utilisation importante de pesticides. Une augmentation de 20 % du risque de thyroïdite et de 41 % du risque de thyrotoxicose a également été trouvée. La quantité totale de pesticides utilisés et la surface totale des serres étaient supérieures dans la région avec les utilisations plus importantes de pesticides. Donc, en dehors des applicateurs et des agriculteurs, la population vivant proche des régions d'agriculture intensive est considérée comme ayant des expositions plus élevées de pesticides que d'autres populations. Cependant, cette étude pratiquement écologique dans son approche ne permet pas de tirer de conclusion forte.

Freire et coll. ont mené une étude portant sur les habitants d'un village au Brésil, à proximité d'un ancien site d'une usine de production de pesticides, où les sols, les eaux et les produits alimentaires locaux sont fortement contaminés par des pesticides organochlorés. Les auteurs ont montré par une approche transversale chez environ 600 hommes et femmes, que les concentrations de T3 totale étaient associées positivement avec la concentration sérique d'endosulfan II chez les hommes, alors que chez les femmes des associations négatives ont été retrouvées pour l'endosulfan II, ainsi que pour l'α-chlordane, le DDT, et le méthoxychlore (Freire et coll., 2013). Une diminution des T4 libres était observée avec le β-HCH et le DDT chez les hommes et une augmentation des T4 libres avec le HCB, l'heptachlore et le DDT chez les femmes. Les niveaux de TSH étaient associés positivement à ceux de β-HCH chez les hommes.

Dans une étude portant sur une population rurale habitant à proximité d'une usine de production de composés organochlorés et fortement exposée au HCB, Sala et coll. ont montré une association négative entre les concentrations sériques de HCB et T4 totale après ajustement sur les facteurs de confusion (diminution de 0,32 µg/dl pour chaque unité, ln ng/ml, d'augmentation de HCB, n = 192). Les associations n'étaient pas modifiées après ajustement sur les lipides (Sala et coll., 2001).

Dans une population de 232 jeunes Américains habitant à proximité de plusieurs fonderies, après ajustement sur les variables sociodémographiques et autres polluants, la concentration sérique de HCB était associée à une diminution de T4 (Schell et coll., 2008). La même équipe a montré ensuite une augmentation des anticorps anti-TPO, uniquement chez les jeunes qui avaient été allaités (n = 47) en relation avec une exposition avec DDT (évalués par la mesure du DDE), HCB et mirex (Schell et coll., 2009).

Une petite étude menée en Inde a mesuré les hormones thyroïdiennes et les biomarqueurs d'exposition aux pesticides chez une centaine de sujets habitant

dans une zone rurale avec une forte utilisation de pesticides (Srivastava et coll., 1995). Au total, 24 % des sujets avaient des niveaux bas de thyroxine, et ces niveaux étaient associés à des faibles niveaux de résidus de pesticides organochlorés.

- ***Études chez les femmes enceintes ou enfants***

Chez 430 femmes enceintes habitant dans une région de floriculture au Mexique, la mesure de l'exposition au p,p'-DDE lors de la première moitié de la grossesse était associée positivement au niveau de T3 totale (Hernandez-Mariano et coll., 2017). Finalement, dans une étude transversale portant sur 66 enfants indonésiens habitant en zone agricole (Suhartono et coll., 2018), la TSH était plus élevée et on constatait davantage d'hypothyroïdie (définie par les auteurs comme un taux de TSH > 4,5 µIU/l) chez les plus exposés (par exemple, ratio de la prévalence = 2,4 ; IC 95 % [1,4-4,3] avec la détection de pesticides organophosphorés).

Pathologies cancéreuses

Dans une population importante de 6 310 femmes résidentes de ferme, un excès de cancer de la thyroïde était retrouvé par rapport à des femmes qui habitaient en milieu rural, mais cet excès n'était pas statistiquement significatif malgré la taille de l'échantillon, en raison du faible nombre de cas (n = 9) (Wang et coll., 2002).

Conclusion – données épidémiologiques

Sur plus de 70 études épidémiologiques, une dizaine portaient sur des riverains de zones agricoles ou industrielles et l'autre partie des études portaient sur des populations en milieu professionnel, et en population générale en proportion équivalente. La majorité des études étaient transversales, avec uniquement 15 études de cohorte (tableau 17.I, voir en fin de ce chapitre) et 3 études cas-témoins dont une nichée dans une cohorte.

La plupart des études retrouvaient une association entre les mesures d'exposition et des variations de marqueurs biologiques de la thyroïde, mais avec des directions qui n'étaient pas toujours concordantes. De nombreuses études ont montré une association entre l'exposition aux pesticides organochlorés et une diminution de la concentration sérique des hormones thyroïdiennes (T4 et T3) et/ou une augmentation des niveaux de TSH, notamment chez les travailleurs exposés professionnellement. Selon Piccoli et coll., les données actuelles suggèreraient que les modifications des hormones thyroïdiennes

induites par les pesticides pourraient être permanentes ou réversibles en fonction de l'intensité et la durée de l'exposition, tout en précisant que c'est une hypothèse qui demande à être confirmée (Piccoli et coll., 2016).

À noter qu'il est souvent difficile pour les pesticides organochlorés de faire la part des expositions car les concentrations sériques (principale mesure d'exposition) sont associées notamment aux PCB et aux dioxines dont ils partagent la propriété de lipophilie et s'accumulent donc dans les graisses au cours du temps de la même manière. Également, comme les DAP sont aussi présents dans les aliments et l'environnement, leur présence peut être attribuée à tort à une exposition aux pesticides organophosphorés (parent actif) alors que cela reflète plutôt une exposition aux composés DAP (Krieger et coll., 2012).

Il y a une augmentation récente du nombre d'études montrant qu'un nombre croissant de substances chimiques, à des concentrations environnementales, pourraient perturber les fonctions thyroïdiennes. L'association entre l'exposition aux pesticides organochlorés et le risque d'hypothyroïdie semble être retrouvée dans beaucoup d'études, en particulier en milieu professionnel, mais la plupart reposent sur les données de l'AHS. Pour les autres pesticides, l'association a été moins étudiée et les résultats sont moins concordants. Comme ont souligné les auteurs d'une revue récente (Campos et Freire, 2016), étant donné l'utilisation généralisée des pesticides, les recherches à venir doivent se focaliser sur les effets des substances actives actuellement utilisées, et reposer sur des études de cohorte qui évaluent l'exposition en combinant questionnaire et mesure de biomarqueurs.

Finalement, les données sont plus rares pour les autres pathologies de la thyroïde, notamment pour les cancers. On ne retrouvait pas d'association claire avec le risque de cancer de la thyroïde, avec des études montrant soit une augmentation de risque, une diminution de risque ou une absence d'association.

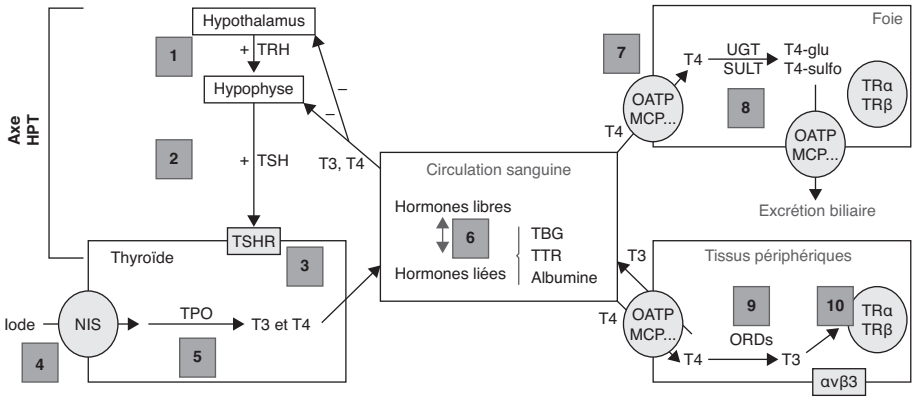
Thyroïde et pesticides : aspects mécanistiques

La glande thyroïde a longtemps été ignorée en tant que cible potentielle des perturbateurs endocriniens au profit d'études orientées très majoritairement vers la fonction de reproduction. Cela peut s'expliquer par plusieurs raisons, notamment par le fait que les HT ont des effets biologiques multiples, tant au niveau des organes qu'au niveau moléculaire (Brouwer et coll., 1998 ; Miller et coll., 2009 ; Tata, 2013). Ces processus sont pour la plupart aussi soumis à d'autres contrôles, et les régulations croisées par exemple entre les

axes hypothalamo-hypophyso-gonadique (*Hypothalamic-Pituitary-Gonad* ; HPG) et hypothalamo-hypophyso-thyroïdien (*Hypothalamic-Pituitary-Thyroid* ; HPT) compliquent encore davantage ces questions (figure 17.4). Les perturbateurs des hormones thyroïdiennes (*Thyroid Hormone Disrupting Compounds* ; THDC) sont susceptibles d'interagir avec un ou plusieurs acteurs impliqués dans la fonction thyroïdienne mais aussi avec d'autres systèmes de régulation, par exemple via la modulation d'expression des UGT par les ligands du récepteur aryl-hydrocarbone (AhR).

En rapport avec les outils et modèles disponibles pour tester une dérégulation de la fonction thyroïdienne, les cibles le plus souvent testées sont les suivantes :

- inhibition du transport de l'iode > diminution taux sérique T3 et T4 (niveau 4) ;
- inhibition de la TPO > diminution taux sérique T3 et T4 (niveau 5) ;
- altération de la fixation aux protéines de transport > relargage de T4 et T3 (niveau 6) ;
- augmentation du transport cellulaire > élimination accrue de T3 et T4 (niveau 7) ;
- augmentation du métabolisme de phase 2 hépatique > élimination accrue de T3 et T4 (niveau 8) ;
- inhibition des sulfotransférases > diminution de sulfonylation des HT (niveau 8) ;
- inhibition des désiodases > diminution taux sérique T3 (niveau 9) ;
- perturbation de l'interaction de T3 avec ses récepteurs (niveau 10).



704 **Figure 17.4 : Régulation thyroïdienne et sites de perturbation**

Quels essais et modèles pour tester les effets perturbateurs de la fonction thyroïdienne ?

Un récent rapport de l'OCDE recense les essais *in vitro* ou *ex vivo* pour le criblage des composés pouvant avoir des effets perturbateurs thyroïdiens (OECD, 2017). Des tests ont été développés pour évaluer l'action des THDC soit *in vivo*, majoritairement chez le rat, soit *in vitro*. Parmi les nombreux essais réglementaires, commercialisés ou développés dans les laboratoires de recherche, le ciblage est majoritairement orienté vers la synthèse hormonale via une interaction avec la TPO ou le NIS, et leurs interactions avec les différents récepteurs, transporteurs ou enzymes périphériques de conversion de l'axe HPT. Néanmoins, cette revue souligne l'impossibilité de réaliser une batterie de tests qui permettent de cribler tous les mécanismes de perturbation de l'axe HPT. Il ressort également, de ce travail d'inventaire, qu'il n'existe pas à l'heure actuelle de test réalisable en routine intégrant le criblage de l'ensemble de ces mécanismes de toxicité.

La majeure partie du criblage de la perturbation de la fonction thyroïdienne est réalisée grâce à l'analyse de paramètres qui sont venus se greffer aux tests de criblage de la perturbation des hormones sexuelles.

Si l'analyse détaillée de la batterie de tests existants (voir addenda en fin de chapitre) illustre l'absence d'un test unique qui intègrerait les différents mécanismes de toxicité directe vis-à-vis de la glande thyroïde, un criblage à moyen/haut débit est proposé par différentes agences. Ce criblage pourrait reposer sur la mesure de l'activité transcriptionnelle de gènes régulés par la fonction thyroïdienne, par exemple sur la lignée cellulaire PCCl3, dans le but de détecter des évènements initiateurs de toxicité. Pour les essais *in vivo*, il est urgent et essentiel de poursuivre et développer des tests tirant profit des étapes de métamorphose et organogenèse chez les batraciens ou les poissons, et pour des essais à court terme, de construire des modèles de génotype sauvage ou muté avec des gènes rapporteurs (Morvan-Dubois et coll., 2008 ; Morvan-Dubois et coll., 2013 ; Spirhanzlova et coll., 2019).

Données des études toxicologiques

Des études épidémiologiques suggèrent un lien entre l'exposition professionnelle et environnementale à certaines substances actives ou familles de pesticides et une augmentation du risque de pathologies thyroïdiennes. Les résultats d'études expérimentales peuvent renforcer la plausibilité d'une

association, contribuer à identifier les substances actives impliquées et éclairer les mécanismes potentiellement à l'origine de l'effet.

En raison d'un mode d'action en amont de la fonction de la thyroïde et de la production des HT, d'interconnexion de régulations endocriniennes, de l'importance de la dose, de la fenêtre et du temps d'exposition sur les modèles aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*, la littérature scientifique est contradictoire sur un effet pathologique avéré et spécifique d'une dérégulation de la fonction thyroïdienne suite à l'exposition de pesticides. Plusieurs rapports ont été publiés ces dernières années par l'Efsa analysant les données issues des essais toxicologiques sur différentes substances actives de pesticides en vue de caractériser leurs effets sur la thyroïde. En 2013, l'agence rapportait que parmi 287 pesticides autorisés jusqu'au 1er janvier 2012, 101 d'entre eux montraient une activité potentielle ou avérée de perturbation de la fonction thyroïdienne, bien que la très grande majorité de ces pesticides aient été interdits à la vente (Efsa PPR, 2013). Un rapport subséquent a identifié 57 substances actives ayant au moins un effet sur le système thyroïdien, dont 53 composés affectant les cellules folliculaires ou les niveaux sériques d'hormones (RIVM, ICPS, ANSES, 2016). Enfin, dans un rapport récent, 128 pesticides étaient identifiés comme pouvant être responsables d'hypothyroïdie (insuffisance de production d'HT), la pathologie thyroïdienne la plus fréquemment associée à l'exposition aux pesticides (Efsa, 2019).

Une analyse des études mécanistiques sur quatre familles de pesticides (organophosphorés, organochlorés, carbamates, pyréthrinoïdes) ou substances actives (glyphosate, fipronil) sélectionnées sur la base d'évidences épidémiologiques même faibles est présentée. D'autres familles chimiques (néonicotinoïdes, inhibiteurs de la succinate déshydrogénase) ont été également analysées en se fondant sur leur effet de perturbation thyroïdienne. Un classement par cible n'a pas été retenu car de nombreux THDC interagissent sur plusieurs cibles. Notons que des formulations peuvent être utilisées avec des résultats différents de ceux des substances actives, et que la question des mélanges sera simplement abordée et non traitée, car les cas concrets sont encore en nombre limité.

Organochlorés

In vivo

Bien qu'interdits au niveau européen, les pesticides organochlorés sont très persistants dans l'environnement et ils ont la capacité de s'accumuler dans les tissus adipeux des organismes vivants. Les études épidémiologiques ont montré des associations entre plusieurs substances actives organochlorées et

une diminution du taux des HT ou d'augmentation de TSH (les signes d'une hypothyroïdie).

Sur les modèles animaux, les organochlorés induisent une altération du niveau des hormones thyroïdiennes via différents mécanismes. Ainsi, une exposition de rats au DDT dans l'eau de boisson en chronique et à faible dose produit une augmentation de T4, T3 ainsi qu'une baisse du taux de TSH à 6 semaines de traitement, puis il est observé à 10 semaines une baisse des taux de T4 et T3 (Yaglova et Yaglov, 2014). Des rats exposés pendant 1, 6 ou 10 semaines à une faible dose de DDT (20 µg/l dans l'eau de boisson) présentent des modifications cytologiques de l'épithélium folliculaire de la thyroïde et un transport vésiculaire altéré au niveau apical (Yaglova et Yaglov, 2017). De plus, le fonctionnement de l'appareil de Golgi et la sécrétion de HT est perturbé. Son métabolite, le DDE, provoque des résultats en partie similaires : il induit chez les rats mâles exposés pendant 5 ou 10 jours par voie intra-péritonéale une diminution de T4L, T3L, TSH et de TTR ainsi qu'une augmentation des ARNm des enzymes hépatiques UGT impliqués dans l'élimination des HT et de ceux des TR au niveau hypothalamique (potentiellement responsables de rétrocontrôles) (Liu et coll., 2011 ; Liu et coll., 2014). Une diminution de l'expression de l'ARNm codant la désiodase D2 est constatée alors que l'expression de D1 et D3 n'est pas altérée (Liu et coll., 2014).

Des jeunes poissons (*S. salar*) exposés pendant 5 jours au DDE à la dose de 10 µg/l montrent une diminution d'expression au niveau du SNC, des gènes codant à la fois la TSHβ et le TRα, une induction hépatique et rénale de TSHβ et D2 et une induction de TRβ dans le foie (Mortensen et Arukwe, 2006). De plus, le DDE induit l'expression de CYP3A et PXR dans le foie. Enfin, le DDE est positif dès 10^{-12} M et présente une relation dose-réponse non monotone dans le test *Xenopus Embryonic Thyroid Assay* (XETA ; voir addenda en fin de chapitre) après 3 jours d'exposition, une concentration retrouvée dans le liquide amniotique (Fini et coll., 2017).

D'autres organochlorés ont fait l'objet d'études approfondies : chez le rat, une exposition au HCB induit une diminution de T4 mais un maintien du taux de T3L en rapport avec une augmentation de 5'-désiodase de type I dans la thyroïde et le foie. Il est observé une augmentation de UGT-T4 sans changement de l'UGT-T3 expliquant le maintien du taux de T3L (Alvarez et coll., 2005). Le HCB peut aussi se lier aux transporteurs sériques et entrer en compétition avec T4 (van Raaij et coll., 1993). Enfin, le HCB est positif dès 10^{-9} M dans l'essai XETA après 3 jours d'exposition (Fini et coll., 2017).

Chez le poisson zèbre (*D. rerio*), l'exposition des larves au pentachlorophénol (PCP) induit une augmentation d'expression (dès 3 µg/l) de *Tsh*β, *Nis*, *Tg* et *Dio1*, *Dio2*, *Tr*α, *Tr*β (dès 1 µg/l). Le taux de T4 est diminué alors que celui de T3 est augmenté (à 10 µg/l) d'où une augmentation du rapport T3L/T4L (Guo et Zhou, 2013). L'induction de Nis et Tg peut être un mécanisme de compensation de la diminution de T4. La diminution de T4 suite à une augmentation de T3 est fréquemment observée chez les poissons exposés aux THDC avec pour conséquence une augmentation d'expression de gènes pour contrer la diminution de T4 (Wang et coll., 2013). Ainsi, le niveau de T4 joue un rôle critique majeur suite à une augmentation de T3. L'exposition au PCP pendant 4 jours à 0,1, 1, 10, 100, 500, 1 000 µg/l régule positivement l'expression des gènes de l'axe de régulation HPT, tels que les *TR*α et β, *Nis*, *Dio1* et *Dio2* illustrant la perturbation de la régulation thyroïdienne (Guo et Zhou, 2013 ; Cheng et coll., 2015). L'exposition pendant 70 jours de *D. rerio* au PCP induit une diminution d'expression de *tsh*β et *tr*β dans le cerveau ainsi qu'une augmentation d'expression hépatique de ugt1ab et une diminution de dio1. Un dimorphisme sexuel est observé pour les niveaux de dio2, sult1 et ttr (Yu et coll., 2014). Enfin, cette exposition à doses environnementales est associée à des perturbations d'expression de gènes impliqués dans la régulation thyroïdienne, une altération du taux des HT et des malformations dans la descendance des mères exposées correspondant à une perturbation du développement (Yu et coll., 2014).

Chez le poisson zèbre, le chlorothalonil (apparenté aux organochlorés) ainsi que son métabolite, le 4-hydroxychlorothalonil, exercent une activité agoniste du récepteur ERα à des doses d'exposition environnementales. En revanche, seul le 4-hydroxychlorothalonil présente à la fois une activité agoniste à faible concentration (10^{-9} M) et faiblement antagoniste à forte concentration (10^{-5} M) en présence de 10^{-8} M de T3 vis-à-vis du récepteur TRβ (Zhang et coll., 2016). Ce résultat illustre encore une fois le fait que les métabolites ne doivent pas être oubliés dans une recherche de toxicité.

Des poissons (*O. niloticus*) ont été exposés via l'alimentation à l'endosulfan à faible dose (0,1 µg/g) ou forte dose (0,5 µg/g) pendant 21 ou 35 jours (Coimbra et coll., 2005). Alors que le taux de T3 est stable, à faible dose d'exposition (21 et 35 jours), l'endosulfan induit une baisse du taux de T4 et rT3. Pour étudier le mécanisme permettant le maintien du taux de T3, l'activité des désiodases est déterminée dans différents organes. L'activité hépatique de D1 est diminuée alors que celle de D3 est augmentée. L'activité hépatique de D2 est stable ainsi que celle de D1 augmentée au niveau rénal. La stabilité du taux de T3 est probablement en rapport avec le rôle majeur joué par la désiodase hépatique D2 et la compensation par l'activité de D1 rénale. Ce résultat

illustre le fait que le simple dosage des HT pourrait ne pas être suffisant pour évaluer une perturbation de l'axe HPT (Coimbra et coll., 2005).

Des poissons médaka (*O. latipes*) sont exposés au métolachlore à 1, 10, 100 et 1 000 µg/l pendant 14 jours avec la conduite d'une analyse en transcriptomique (Jin et coll., 2011). Le métolachlore dès 10 µg/l chez les juvéniles induit l'expression de *Trh, Dio2, Thrα, et Thrβ* chez les jeunes poissons et chez les femelles adultes (100 µg/l) illustrant l'impact sur la régulation de l'axe HPT et aussi un effet dimorphique sexuel.

Des carpes (*G. rarus*) à l'état larvaire et adulte sont exposées à l'acétochlore à 20, 200 et 2 000 ng/l pendant 21 jours dans le cadre d'une analyse transcriptomique (Li et coll., 2009). L'expression de *trα* est induite chez les larves à faible dose (20 µg/l) alors que celle de *d1* est stable et celles de *d2*, *nis*, et *me* (enzyme malique ; impliquée dans le métabolisme des lipides et régulée par les HT) sont diminuées. À plus forte dose, tous les gènes sont réprimés indiquant que le développement peut être affecté en condition environnementale. Chez les adultes, l'expression des gènes étudiés est diminuée dans le cerveau des poissons exposés et plus particulièrement chez les femelles. Ces résultats suggèrent que l'acétochlore perturbe le développement de SNC de façon plus marquée chez les femelles.

In vitro

Peu d'études ont été menées *in vitro* en comparaison des expérimentations animales ; elles illustrent toutefois des mécanismes susceptibles d'impacter l'axe HPT en amont de la sécrétion des HT. Ainsi, le DDT testé sur des cellules CHO exprimant le récepteur humain de la TSH provoque une inhibition dose dépendante de l'activité adénylate cyclase stimulée par la TSH (Santini et coll., 2003). Le DDT exerce en outre dans ces cellules CHO, une inhibition de la mobilisation du TSHR (De Gregorio et coll., 2011). Le DDT peut aussi intervenir dans la formation de vésicules extracellulaires en excluant le récepteur de la TSH des radeaux lipidiques empêchant son activation et son internalisation. Ainsi la formation de vésicules extracellulaires contenant le récepteur de la TSH induite par le DDT pourrait être impliquée dans le développement d'une hyperthyroïdie auto-immune dans la maladie de Basedow (Rossi et coll., 2018).

Le PCP testé sur des cellules CHO transgéniques présente une activité antagoniste sur le TRβ à la concentration très élevée de 10^{-5} M (Yu et coll., 2019). Ce résultat est en accord avec la diminution d'activité transcriptionnelle de *Dio1*, un gène dépendant de la régulation de T3 dans la lignée GH3 (cellules hypothalamiques de rat) (Guo et Zhou, 2013).

Un mécanisme indirect inhibiteur de la croissance des thyréocytes est illustré par une augmentation de la production de TGF-β1 suite à l'exposition des cellules FRTL-5 à HCB (Chiappini et coll., 2014). TGF-β1 est un régulateur négatif de la croissance des cellules épithéliales thyroïdiennes. Les niveaux de p27 cytosolique et nucléaire (un inhibiteur de CDK bloquant le cycle cellulaire) étaient augmentés dès 5 µM de HCB. Le HCB (5 µM) induit une diminution concomitante du taux de la protéine cycline D1 dans le noyau. De plus la signalisation du TGF-β1-Smad est impliquée dans les altérations des taux de protéines p27 et cycline D1 induites par HCB.

En résumé, les organochlorés dans leur ensemble semblent avoir un impact *in vivo* sur la diminution des HT avec constamment une diminution de la T4 (les résultats obtenus sur la T3 libre sont contradictoires) ; une augmentation des UGT hépatiques pourrait être responsable de cet effet (observé avec le DDT et le HCB). Toutefois, les études *in vitro* montrent que des mécanismes impliquant d'autres acteurs de l'axe HPT, comme le fonctionnement du récepteur à la TSH sont possibles. Pour lever les contradictions (par exemple sur la T3), des études mesurant les niveaux d'organochlorés chez des personnes souffrant d'hypothyroïdie ou hyperthyroïdie sont nécessaires.

Organophosphorés

In vivo

Plusieurs organophosphorés parmi les plus utilisés ont été testés sur différents modèles animaux. Ainsi, le malathion semble négativement impacter les niveaux de HT sur différents systèmes d'exposition et de modèles : une exposition de rats pendant 21 jours à une dose non toxique de malathion (0,06 mg/j) induit une diminution des niveaux sériques de T3 et T4, ainsi qu'une augmentation de TSH (Akhtar et coll., 1996). Des larves de soles (*S. senegalensis*) sont exposées du 4^{e} jour post-éclosion jusqu'à un mois au malathion à concentrations retrouvées dans l'environnement (1,56, 3,12, et 6,25 µg/l) (Ortiz-Delgado et coll., 2019). Il est observé des phénotypes anormaux principalement en rapport avec une perturbation de la métamorphose (migration des yeux, squelette, augmentation taille des thyréocytes). La diminution de T3 et T4 sérique est aussi observée liée dans ce cas à une hypoactivité de la thyroïde due à une diminution de sécrétion de T4 mais aussi une inhibition des désiodases. De plus une régulation négative de l'expression de TRβ est constatée parallèlement au déclin des HT sériques.

Des souris sont exposées au chlorpyrifos (CPF) à des doses n'induisant pas d'inhibition de l'acétylcholinestérase au niveau du SNC, pendant la gestation et/ou en post-natal (De Angelis et coll., 2009). Comme dans le cas du malathion, il est observé une diminution de T4 chez les souris gestantes mais aussi chez la descendance 150 jours après la naissance, avec un dimorphisme sexuel, marqué par une apparente vulnérabilité des mâles ; au niveau histomorphologique, il est observé des modifications chez les mères avec une augmentation de la hauteur des cellules folliculaires et, chez la progénie, une augmentation du nombre de cellules folliculaires nécrotiques en relation avec la dose d'exposition. Chez des rates exposées au CPF entre les jours 17 et 20 de gestation, dans une fenêtre de temps cruciale pour le processus de neurogenèse à faible dose (1 ou 5 mg/kg/j), les femelles de la descendance (jeunes adultes et adultes) montrent une hyperactivité locomotrice, une baisse de mémorisation et des fonctions cognitives, plus marquées à faible dose (1 mg/kg/j) (Levin et coll., 2002). Sur un troisième modèle (*A. triostegus*, le chirurgien-bagnard), une exposition des larves au CPF à dose correspondant à une pollution environnementale, conduit là aussi, à une diminution du taux de T3 et des perturbations de la métamorphose du poisson vivant dans les récifs coralliens (Holzer et coll., 2017).

D'autres organophosphorés ont été testés avec des résultats concordants avec du CPF et du malathion : ainsi, l'exposition de gardons (*R. rutilus*) au diazinon à concentration environnementale induit une diminution des taux de T3, T4 et TSH ainsi que de cortisol qui pourrait être relié à un dysfonctionnement thyroïdien, soit de la production, soit de la sécrétion des HT (Katuli et coll., 2014).

Par ailleurs, l'exposition de poissons rouges (*C. auratus*) au monocrotophos (MCP) conduit à une hyperplasie et hypertrophie de l'épithélium folliculaire thyroïdien entraînant une diminution du taux plasmatique de T3L en relation avec une augmentation d'expression des gènes de désiodase D1 (formation de T3) et D3 (formation de T2, hormone inactive) hépatiques corrélées à la modulation de l'expression de l'ARNm de la transthyrétine hépatique (Zhang et coll., 2013b ; Zhang et coll., 2014b ; Zhang et coll., 2018). Une réponse compensatoire à la baisse des taux de T3 est illustrée par une augmentation de la transcription du gène de la sous-unité β de la TSH. De plus, le MCP induit une augmentation du taux plasmatique de 17β-œstradiol qui pourrait renforcer l'impact du pesticide sur l'axe HPT en modulant l'expression des désiodases hépatiques (Zhang et coll., 2018).

In vitro

Malathion et CPF ont été principalement étudiés sur des modèles cellulaires : l'exposition de cellules FRTL-5 au malathion conduit à une inhibition de la transcription de la TG, une baisse d'expression du récepteur de la TSH et une réduction du niveau d'AMPc intracellulaire (Xiong et coll., 2018). Le malathion diminue la synthèse des HT et diminue l'expression des TR, ce qui pourrait expliquer les résultats quantitatifs obtenus *in vivo* (baisse des niveaux sériques de HT).

Des cellules PCCl3 (thyréocytes immortalisés de rat) ont été exposées à trois concentrations de CPF avec la conduite d'une analyse du transcriptome (Porreca et coll., 2016). Parmi les gènes dérégulés, il a été identifié trois gènes, dont l'expression était diminuée, participant à différents complexes et réseaux de régulation intervenant dans la prolifération et la survie des thyréocytes : *Egr1* (*Early growth response protein 1*), *Hmga1* (*High-mobility group AT hook 1*) et *Zfp36l2* (*Zinc Finger Protein 36, CH3 Type-Like 2*).

Ces derniers résultats sont confirmés par une analyse du transcriptome d'organes (thyroïde, rate) de souris exposées au CPF par voie orale. De plus une réduction de T4L est constatée ainsi que le développement d'une pancytopénie lors d'une exposition prolongée, signe d'une hématotoxicité déjà décrite chez les agriculteurs exposés (Fareed et coll., 2013) et des souris (Chatterjee et coll., 2014). Plus généralement, la totalité des études *in vitro* et *in vivo* vont dans le sens d'une diminution des HT liée à une exposition aux organophosphorés (à des doses environnementales dans certains cas). Sur le plan mécanistique, cette diminution est liée dans certaines études, à une diminution de la production de celles-ci.

Carbamates

Ces fongicides sont majoritairement utilisés pour la culture des fruits et légumes ainsi que des plantes ornementales. Le mancozèbe et le thirame sont particulièrement étudiés sur le plan toxicologique.

In vivo

L'exposition du bengali rouge (un passereau, *A. amandava*) au mancozèbe (0,5 % de la DL_{50}) par alimentation pendant 30 jours provoque une hypertrophie des thyréocytes, une altération du colloïde et une perturbation de l'axe HPT avec une diminution de T4, T3 et TSH (Pandey et Mohanty, 2015). Des effets ont aussi été constatés chez des rates Wistar exposées par gavage à 50, 100 ou 150 mg/kg/j de mancozèbe (NOAEL = 5 à 10 mg/kg/j)

du 7e jour de gestation (*Gestational Day* 7 ; GD7) au 16e jour post-naissance (*Post-Natal Day 16* ; PND16). Une neurotoxicité est observée chez les femelles gestantes exposées à 150 mg/kg/j. Aux doses inférieures, le taux de T4 est diminué dès GD15 alors qu'il n'est pas modifié chez les nouveau-nés à PND16 (Axelstad et coll., 2011).

L'ETU, un métabolite du mancozèbe et d'autres pesticides de la famille EBDC, est utilisé comme un biomarqueur d'exposition à ces composés, et montre lui aussi des effets toxiques sur la thyroïde. L'exposition des rates à 0, 0,1, 0,3, et 1,0 mg/kg/j d'ETU par gavage entre GD8 et PND16 est associée à une reprotoxicité et une hypothyroïdie chez les rates gestantes et chez la génération F1 à une dose d'exposition équivalente à la LOAEL[67] (0,25 mg/kg/j pour un effet thyroïdien à long terme) (Maranghi et coll., 2013). La perturbation de la synthèse des HT par l'ETU, le mancozèbe, et d'autres composés apparentés peut s'expliquer par une inhibition de l'activité de la TPO (Doerge et Takazawa, 1990 ; Freyberger et Ahr, 2006), ce qui pourrait conduire à la baisse de concentration de T4 observée à la fois chez les rates et le bengali.

Un effet inhibiteur sur l'activité de la TPO se retrouve aussi avec le thirame. En effet, des embryons de poisson zèbre exposés à divers stades de développement (2 à 120 heures après la fertilisation ; hpf) pendant 1 h à des concentrations entre 0,001 et 10 µM sont caractérisés par une diminution de l'expression de *Dio3* à 12 et 24 hpf de façon dose-dépendante ainsi que de celle de *TPO* à 48 et 96 hpf (Chen et coll., 2019). La courbure anormale de la notocorde[68] apparaît comme un marqueur de toxicité du thirame suite à une exposition à des temps précoces de développement potentiellement en relation avec la dérégulation de *Dio3* et *TPO*.

In vitro

Peu d'études ont été conduites *in vitro* pour tester la fonction thyroïdienne. Une étude toxicogénomique sur la lignée PCCl3 exposée à l'ETU avait pour objectif de comparer la signature des transcrits *in vitro* en rapport avec les effets adverses observés *in vivo* chez la souris (Porreca et coll., 2016). Il est observé l'inhibition d'expression des transcrits *Egr1*, *Hmga1* et *Zfp36l2* mais non spécifiques d'une atteinte de la thyroïde car ils correspondent à des gènes impliqués dans des réseaux cycle cellulaire/apoptose de la thyroïde mais aussi du système hématopoïétique.

67. Dose minimale ayant un effet nocif observé (*Lowest-Observed Adverse Effect Level* ; LOAEL).
68. Axe dorsal primitif des embryons vertébrés constitué d'un cordon cellulaire d'origine mésodermique qui joue un rôle dans la différenciation et l'organisation de la colonne vertébrale.

Ces résultats sur les modèles *in vivo* suggèrent que certains carbamates (mancozèbe et thirame) pourraient, comme pour les organophosphorés, affecter les niveaux des HT par une dérégulation de certaines activités comme celle de la TPO (Marinovich et coll., 1997).

Pyréthrinoïdes

Ces molécules ont remplacé les organochlorés et exercent leur action par le biais entre autres, d'une liaison à des canaux sodiques voltage-dépendants bloquant la respiration chez les insectes. Il existe de nombreux pyréthrinoïdes différents, dont certains qui sont suspectés d'exercer un effet sur le système thyroïdien.

In vivo

Un effet du fenvalérate sur la signalisation thyroïdienne dans le placenta est corroboré par plusieurs études expérimentales sur des rongeurs. Ainsi, l'exposition des souris gravides au fenvalérate (0,2, 2 ou 20 mg/kg/j) par voie orale pendant la gestation entraîne, à la plus forte dose, une diminution du poids fœtal de la progénie (mâle et femelle) (Wang et coll., 2017a). Il n'est pas trouvé de différence du taux de T4 et T3 sérique mais une diminution d'expression de TRα1 et TRβ1 placentaires dès 0,2 mg/kg. Une des voies de régulation dépendant des TR pourrait concerner l'expression du *vascular endothelial growth factor* (VEGF), un régulateur clé de l'angiogenèse du placenta. L'expression du VEGF est stimulée par T3 dans les trophoblastes de souris (Silva et coll., 2015a) et par T4 dans le placenta de rat (Silva et coll., 2015b). En accord avec cette hypothèse, il est retrouvé une diminution d'expression de *Igf2* et *Vegf*α dans le placenta de souris exposées. De plus, le fenvalérate réduit l'expression des transporteurs de nutriments *CD36*, *Snat1*, et *Snat2*. Ainsi, l'exposition de souris gestantes au fenvalérate perturbe la signalisation dépendante des TR et impacte le développement fœtal (Wang et coll., 2017a).

Des rats mâles Wistar exposés à la dose de 100 et 200 mg/kg/j de fenvalérate par voie intrapéritonéale pendant 45 jours montrent une augmentation du taux sérique de T3 et T4. Cependant il est rapporté des paralysies en fin d'expérience en rapport avec les doses élevées d'exposition (Kaul et coll., 1996). D'autres expériences, sur une période plus courte, démontrent un effet du fenvalérate sur les niveaux sériques des HT. Ainsi, des rats mâles Wistar exposés pendant une semaine à la dose de 100 mg/kg/j (un tiers de la DL_{50}) de fenvalérate par voie intrapéritonéale montrent une augmentation du taux de T3 sans diminution significative de TSH (Giray et coll., 2010).

En revanche, des souris femelles exposées par voie orale à des doses de 40, 80 et 120 mg/kg/j de fenvalérate (utilisé à 20 % d'activité) pendant une semaine montrent une diminution dose-dépendante du taux de T3 et T4 et de l'activité de la 5' désiodase hépatique (Maiti et coll., 1995). Comme dans de nombreuses expérimentations chez les rongeurs, les causes conduisant à ces résultats contradictoires peuvent concerner le plan expérimental, le sexe en raison d'un dimorphisme, l'agent utilisé et sa pureté, l'espèce ou la souche, la voie et la durée d'exposition, et surtout la dose utilisée. Des doses toxiques peuvent induire des modifications des constantes sériques non spécifiques et signent simplement un dysfonctionnement global. Cependant, d'après les expérimentations recherchant les causes de retard de croissance intra-utérine, le fenvalérate est un candidat potentiel d'une perturbation de l'axe HPT.

D'autres pyréthrinoïdes ont été étudiés en rapport avec l'axe HPT ; des embryons de poisson zèbre ont été exposés à trois substances actives (λ-cyhalothrine, le fenvalérate et la perméthrine) à 2,5, 10, 25, 125 et 500 nM pendant 96 h (Zhang et coll., 2017). Les doses de 2,5 et 10 nM correspondent aux concentrations retrouvées dans l'environnement mais la diminution d'expression de *TR*α et *TR*β pour les trois composés correspond à des concentrations supérieures soit au-delà de 25 nM. Dans une autre étude, des embryons (2 hpf) de poisson zèbre sont exposés à 1, 3 et 10 µg/l de perméthrine (concentrations retrouvées dans l'environnement) jusqu'à 72 hpf (Tu et coll., 2016b). En rapport avec l'absorption du composé sur les parois de l'aquarium, les concentrations réelles d'exposition étaient 0,47, 1,38 et 4,30 µg/l. La perméthrine à la dose de 4,3 µg/l inhibe le développement embryonnaire et induit une augmentation des taux de T4 et T3 sans baisse compensatrice de TSH (Tu et coll., 2016b). La perméthrine à la plus forte dose augmente l'expression des ARNm codant TRF, *TSH*β, Pax8, *Dio1*, *Dio2* et *TPO* ainsi que TTR, *TR*α et *TR*β. La perturbation induite par la perméthrine est probablement la conséquence de sa liaison à la TTR qui déplace T3 et T4 de son transporteur.

Une exposition de rats pendant 21 jours à une dose non toxique de bifenthrine (0,5 mg/j) ou λ-cyhalothrine (0,2 mg/j) induit une diminution de T3, T4 et une augmentation de TSH (Akhtar et coll., 1996). Des embryons (2 hpf) de poisson zèbre sont exposés à 1, 3, et 10 µg/l de bifenthrine ou λ-cyhalothrine jusqu'à 72 hpf (Tu et coll., 2016a). La majorité des gènes étudiés reliés à l'axe HPT incluent TRF, TSHβ, TTR, UGT1ab, Pax8, Dio2 et TRα sont surexprimés suite à l'exposition à la bifenthrine. La λ-cyhalothrine induit un réseau de gènes un peu différent incluant TTR, Pax8, Dio2 et TRα avec une diminution concomitante de Dio1. De plus la bifenthrine

se lie au TRα avec une affinité plus forte que la λ-cyhalothrine (Tu et coll., 2016a).

In vitro

Peu d'études ont été réalisées *in vitro*. Toutefois, une étude vient appuyer un effet potentiel de certains pyréthrinoïdes sur les TR. Ainsi, des cellules rénales de singe (lignée CV-1) exprimant une construction pGal4-L-TRβ plus pUAS-tk-Luc ont été exposées à neuf dérivés pyréthrinoïdes (cycloprothrine, cyfluthrine, cyhalothrine, cyperméthrine, deltaméthrine, étofenprox, fenvalérate, perméthrine et tétraméthrine) de 10^{-5} à 10^{-9} M et montrent un effet antagoniste sur le récepteur (Du et coll., 2010). Les profils sont néanmoins différents : l'effet est observé à 10^{-8} M pour la perméthrine, tétraméthrine et deltaméthrine et à 10^{-7} M pour la cyhalothrine et étofenprox.

En résumé, les résultats expérimentaux sur les pyréthrinoïdes suggèrent fortement un effet de plusieurs de ces molécules sur l'axe HPT. L'étude *in vitro* suggère des modes d'action à des doses faibles (10^{-8} M pour la perméthrine, tétraméthrine et deltaméthrine par exemple) pour certaines molécules toutefois insuffisamment étudiées *in vivo* (à l'exception de la perméthrine, résultats concordants *in vitro* et *in vivo*).

Glyphosate et formulations à base de glyphosate

Une étude très complète a été menée sur des rates gestantes avec du Roundup. Celles-ci sont exposées de GD18 à PND5 au Roundup Transorb à la concentration de 5 mg/kg/j ou 50 mg/kg/j (dose correspondant à la NOAEL). Dans la progénie, le profil hormonal des rats mâles âgés de 3 mois montre une diminution du taux de TSH sans variation de T3 et T4 (de Souza et coll., 2017). L'analyse de l'expression génique a été conduite avec comme résultats pour les groupes exposés : une diminution d'expression de *Dio2*, *Dio3* et des transporteurs membranaires *Slco1c1* (anciennement *Oatp1c1*) et *Slc16a2* (anciennement *Mct8*) au niveau de l'hypothalamus (dès 5 mg/kg/j), une augmentation d'expression de *Dio2*, *Thrα1*, *Thrβ1* et *Slc16a2* et une absence de variation du taux de *Tshβ* au niveau de l'hypophyse (5 mg/kg/j), une augmentation d'expression de *Thrα1*, *Thrβ1* au niveau du foie (50 mg/kg/j) et au niveau du myocarde une augmentation de *Myh6* et diminution de *Dio2*, *Mb*, *Slc2a4*. De plus, le profil d'expression des gènes et les données de métabolomique sont similaires aux données trouvées pour des rats hypothyroïdiens. En résumé, l'exposition au Roundup à faible dose induit une perturbation de l'axe HPT qui mériterait d'être précisée en testant le glyphosate seul sachant que des données épidémiologiques sur le Roundup indiquent

potentiellement une association avec une hypothyroïdie. D'autres modèles et protocoles d'études expérimentales devraient être mis en place pour confirmer ces observations.

Fipronil

Le fipronil, un agent peu toxique pour les mammifères (LD50 = 97 mg/kg en exposition aiguë chez le rat), est très couramment utilisé comme insecticide en médecine vétérinaire. Il est métabolisé par les enzymes hépatiques en fipronil sulfone, et en fipronil-désulfinyl par photoréaction dans l'environnement (FAO et OMS, 1998).

In vivo

Les résultats d'une étude de cancérogenèse chez le rat, mais réalisée à doses toxiques inductrices d'une mortalité excessive, ont montré une augmentation de l'incidence des tumeurs de la thyroïde chez le rat mâle et femelle à des doses de 13 mg/kg/j. Chez ces rats, la concentration de T4 était diminuée et celle de TSH augmentée (FAO et OMS, 1998). Le processus de cancérogenèse chez le rat induit par le fipronil ne repose pas sur un effet génotoxique comme pour la plupart des pesticides inducteurs de tumeurs thyroïdiennes folliculaires mais semble lié à une perturbation de l'homéostasie de l'axe HPT (Hurley, 1998).

Une exposition au fipronil (3 mg/kg/j) *per os* pendant 14 jours de rats femelles induit une diminution concomitante des concentrations plasmatiques d'HT totale et libre, ainsi qu'une augmentation des concentrations plasmatiques de TSH (Leghait et coll., 2009). Sur la base d'un modèle de rat thyroïdectomisé et compensé par injection de T3 afin d'évaluer les clairances de T4T et T4L, le fipronil augmente de deux fois les clairances ainsi que celle de l'antipyrine chez les rats thyroïdiens intacts. Ces résultats suggèrent une augmentation des activités métaboliques hépatiques facilitant l'élimination des HT. En effet le fipronil induit l'expression de plusieurs ARNm des enzymes de phase 1 (*Cyp2b1*, *Cyp2b2*, *Cyp3a1*, *ces2*, *ces6*), de phase II (*Ugt1a1*, *Sult1b1*, *Gst2*) et de phase III (*Abcc2*, *Abcc3*, *Abcg5*, *Abcg8*, *Slco1a1 et Slco1a4*) (Roques et coll., 2013). Ainsi, la perturbation de la fonction thyroïdienne repose sur un métabolisme accru en fipronil sulfone (*Cyp2b1*, *Cyp2b2*, *Cyp3a1*). D'autre part ces perturbations participent à un flux augmenté d'entrée de T4L (*Abcc2*, *Abcc3*, *Slco1a1 et Slco1a4*) et d'efflux des conjugués glucuronés (*Ugt1a1*). Les concentrations plasmatiques de fipronil sulfone sont retrouvées 20 fois supérieures à celles du fipronil (Leghait et coll., 2009). L'augmentation d'expression de gènes du métabolisme hépatique

suggère une participation des récepteurs CAR et/ou PXR activés par les xénobiotiques (car régulateurs par exemple des CYP des familles 2 et 3). En effet, le fipronil active CAR/PXR (Lemaire et coll., 2006) qui régule majoritairement le profil d'expression des gènes hépatiques (Roques et coll., 2013).

Ces expérimentations de toxicologie, parfois à haute dose, sont cependant peu indicatives d'un effet perturbateur endocrinien chez l'être humain ; en effet, le fipronil a été l'objet d'une discussion sur la pertinence du modèle rongeur en raison de l'absence de régulation du taux d'HT libres par la TBG. En conséquence, le même type d'étude a été réalisé chez les ovins qui expriment la TBG avec une régulation thyroïdienne proche de celle de l'être humain. Le fipronil (5 mg/kg tous les 4 jours *per os*) chez les béliers n'induit pas de modifications des taux de T3 et T4 libre et liée et TSH (Leghait et coll., 2010). Chez des brebis thyroïdectomisées de type euthyroïdienne, l'effet de ce traitement est limité à une augmentation modérée de la clairance de T4L. Contrairement au rat, le traitement au fipronil n'a aucun effet sur la clairance de l'antipyrine, marqueur de l'activité de CYP hépatique, chez les brebis.

La différence de réponse entre rongeurs et ovins quant au potentiel perturbateur thyroïdien du fipronil pourrait être liée à la différence d'exposition au toxique ultime, le fipronil sulfone, dont la concentration plasmatique est plus faible chez le mouton que chez le rat.

L'absence d'effet chez les ovins et probablement chez l'être humain en exposition environnementale repose aussi sur des différences interspécifiques bien connues au niveau du domaine de liaison des récepteurs CAR/PXR entre l'être humain et les rongeurs (Kretschmer et Baldwin, 2005). L'absence d'effet inducteur enzymatique hépatique du fipronil chez les ovins pourrait s'expliquer par l'absence de liaison du fipronil aux récepteurs ovins CAR/PXR.

In vitro

Lu et coll. ont comparé l'effet perturbateur endocrinien du fipronil à celui de son métabolite principal, le fipronil sulfone. Les auteurs ont montré que ce dernier (et non le fipronil) présente une activité dose dépendante antagoniste de TRβ analysée à l'aide d'une lignée cellulaire CHO-K1 exprimant le gène rapporteur pGal4-L-hTRβ (Lu et coll., 2015). Ce résultat souligne à nouveau la nécessité d'étudier les métabolites des pesticides qui peuvent se révéler plus actifs que la molécule mère.

En résumé, même si des associations ont été mises en évidence dans deux études menées chez l'être humain et des études réalisées expérimentalement sur les animaux et cellules, il est encore trop tôt pour évoquer un lien entre une exposition au fipronil et la baisse des HT car la qualité et le nombre des études épidémiologiques sont insuffisants et les effets qui sont rapportés le sont chez les rongeurs à haute dose. Toutefois, il est démontré que ce pesticide lie les récepteurs CAR et PXR humain, il a donc une toxicité potentielle en lien avec une augmentation du métabolisme. Comme le fipronil est inducteur d'enzymes hépatiques, une étude d'hépatotoxicité a récemment été réalisée chez le rat Wistar exposé pendant 3 mois à des doses de fipronil (par gavage) et a conclu avec certitude à une hépatotoxicité aux plus fortes doses et montré des résultats plus ambigus à la plus faible dose d'exposition (Kartheek et David, 2018). Ces résultats mériteraient d'être confirmés.

Néonicotinoïdes

Les résultats les plus intéressants concernent l'imidaclopride, un des néonicotinoïdes les plus utilisés dans le monde.

In vivo

L'exposition du bengali rouge (*A. amandava*) à l'imidaclopride (0,5 % de la DL_{50}) *per os* pendant 30 jours provoque une altération du colloïde et une perturbation de l'axe HPT avec une diminution des niveaux de T4, T3 et TSH (Pandey et Mohanty, 2015). Cependant les auteurs ont utilisé une formulation contenant du 1-méthyl-2-pyrrolidone qui peut induire des malformations comme une ossification incomplète chez le rat (Saillenfait et coll., 2002) et cette formulation est 10 fois plus toxique que le principe actif (imidaclopride) (Mesnage et coll., 2014). Les doses toxiques des formulations et les effets délétères ne correspondent pas à ceux des principes actifs et si les organismes sont exposés aux formulations et produits de dégradation dans l'environnement la réglementation concerne les principes actifs. L'effet de l'imidaclopride pourrait cependant refléter une spécificité particulière au sein de la famille des néonicotinoïdes comme le montrent des résultats *in vitro*.

In vitro

L'effet de sept agents de la famille des néonicotinoïdes a ainsi été testé sur la prolifération de cellules hypophysaires GH3 sensibles à l'action de la T3. Il est observé une absence d'effet des néonicotinoïdes testés : thiaméthoxame, imidaclopride, clothianidine, flupyradifurone, dinotéfurane, nitenpyrame, thiaclopride (Mesnage et coll., 2018). En revanche, l'imidaclopride exerce

un effet agoniste à très faible dose (2 x 10^{-10} M) d'après un essai luciférase sur cellules GH3-TRE exprimant un gène rapporteur sensible à l'action des TR activés par un ligand (Xiang et coll., 2017). Ce résultat qui semble en opposition du précédent, peut en fait provenir du faible effet agoniste (moins de 2 fois) qui ne se traduirait pas en réponse physiologique observable ; il pourrait également refléter un effet agoniste partiel, c'est-à-dire agoniste en l'absence d'autres ligands mais antagoniste vis-à-vis de l'action de ligands naturels comme la T3. Ainsi, les vitesses d'association et dissociation du ligand de TRβ sont semblables à celles obtenues avec T3 d'après une expérimentation en résonance plasmonique de surface (Xiang et coll., 2017). Ce résultat démontrerait qu'un effet de compétition est possible d'autant que la concentration utilisée pour lier le récepteur est infra-nanomolaire. L'effet compétiteur semble confirmé par une analyse *in silico* de « *docking* » conduite sur TRα et TRβ, bien que l'affinité de l'imidaclopride soit plus faible que celle de la T3 (Bhaskar et Mohanty, 2014).

En résumé, si la plupart des néonicotinoïdes testés ne semblent pas influencer l'axe HPT (données à reproduire avec d'autres modèles, d'autres protocoles), l'un des plus utilisés, l'imidaclopride, semble exercer un effet de type agoniste partiel, potentiellement compétiteur avec la T3, vis-à-vis des TR et donc susceptible d'interférer avec les boucles de rétrocontrôle.

Inhibiteurs de la succinate déshydrogénase

Le fluopyram, un fongicide à large spectre, est inducteur d'une hyperplasie folliculaire chez les souris mâles et femelles mais est inducteur d'adénome de la thyroïde seulement chez les mâles (Rouquié et coll., 2014). De plus, des souris mâles exposées à 750 ppm de fluopyram pendant 28 jours montrent une augmentation d'élimination de la T4-glucuronidé, une baisse de T4 sérique et une augmentation de TSH. L'évènement moléculaire initial est une activation de CAR/PXR qui induit les enzymes de phase I et II dont les UGT (Rouquié et coll., 2014) soulignant que la prise en compte des mécanismes cataboliques d'élimination des HT au niveau hépatique est essentielle.

Autres dérivés

L'exposition chronique à la trifluraline (un herbicide de la famille des dinitroanilines) pendant 2 ans chez les rats induit des tumeurs de la thyroïde (Emmerson et coll., 1996). Des rats mâles exposés à la trifluraline à la même dose (325 mg/kg/j) dans l'aliment pendant deux semaines montrent une induction d'UGT avec une élimination accrue de T4 conjuguée (Saghir et

coll., 2008). Les taux sériques de T3 et T4 sont diminués avec une augmentation de TSH probablement en rapport avec l'induction d'une hyperplasie de la thyroïde conduisant au développement tumoral.

Conclusion – données mécanistiques

Pour un certain nombre de pesticides, les résultats de tests *in vivo* et *in vitro* (tableau 17.II, voir en fin de ce chapitre) confirment la dérégulation thyroïdienne, très souvent associée à des signes histopathologiques. D'après les tests chez les rongeurs, le seul dosage de TSH n'est pas le biomarqueur de choix pour mettre en évidence une pathologie thyroïdienne et presque toutes les cibles avec des spécificités de tissus peuvent être touchées. L'exposition de rats, souvent à forte dose, aboutit généralement à une augmentation de la conjugaison de T4 (voire T3) et son élimination biliaire sous forme T4-UDG avec une augmentation compensatrice de TSH générant une stimulation de la thyroïde qui peut aboutir au développement tumoral.

Le dossier toxicologique des pesticides est basé sur les recommandations réglementaires et les rongeurs ont été le modèle classiquement utilisé malgré ses limites pour évaluer des THDC chez l'être humain. Les modèles reposant sur la métamorphose des poissons ou batraciens devraient désormais remplacer les rongeurs après une étape de criblage *in vitro*. Les modèles *in vivo* (rongeurs, batraciens, poissons) révèlent assez souvent un dimorphisme sexuel quant à l'expression de gènes dans différents tissus, dont certains peuvent être co-régulés par l'axe HPG avec des conséquences phénotypiques ou physiopathologiques.

Par ailleurs, les pesticides perturbant la régulation thyroïdienne peuvent interagir avec le foie avec comme cible initiale l'activation de CAR, d'AhR... ou à un niveau intégratif de modifier la régulation de l'axe HPT comme par exemple certains pyréthrinoïdes, dont la perméthrine qui interagit avec le récepteur ERα. D'autre part, parmi les pistes à explorer trois d'entre elles méritent un intérêt particulier : *i*) peu d'expérimentations concernent l'évaluation de pesticides comme potentiels perturbateurs du système immunitaire lequel peut représenter un évènement initial amplifié par les interférences sur les cibles de l'axe HPT ; *ii*) peu d'expérimentations se sont intéressées à la régulation non génomique de l'axe HPT suite à une exposition aux pesticides ; *iii*) peu d'expérimentations sont orientées vers les mélanges qui évaluent les effets spécifiques de différents principes actifs en comparaison de combinaisons classiquement retrouvées en agriculture et élevage.

Enfin des pesticides présentant une activité THDC devraient être suivis par les enquêtes épidémiologiques et réciproquement les associations trouvées sur des populations exposées devraient provoquer des recherches sur les mécanismes d'action. Ce domaine toxicologique manquait jusqu'à très récemment d'une approche AOP[69] qui lèvera les ambiguïtés et controverses générées par des tests *in vivo* avec leurs limites.

69. « *Adverse Outcome Pathway* » : une construction conceptuelle assemblant les connaissances sur le lien entre un évènement moléculaire et un effet néfaste à un niveau pertinent pour une évaluation de risque.

Tableau 17.I : Études de cohortes portant sur le lien entre les pathologies thyroïdiennes et l'exposition aux pesticides

Référence Pays	Type d'étude	Population	Nombre de sujets	Exposition Pesticides	Résultats
Exposition professionnelle					
Shrestha et coll., 2018b États-Unis	Cohorte prospective	Applicateurs	35 150	Environ cinquante pesticides des familles de OC, OP, carbamates, Pyr	Augmentation de risque d'hypothyroïdie
Shrestha et coll., 2018a États-Unis	Idem	Épouses des applicateurs	24 092	Idem	Fongicides (bénomyl, manèbe/mancozèbe, métalaxyl), herbicides (pendiméthaline), et parmi les plus de 60 ans : insecticides (parathion, perméthrine) : Hypothyroïdisme : HR [1,56-2,44] Insecticides (diazinon), fongicides (manèbe, mancozèbe), herbicides (métolachlore) : Hyperthyroïdisme : HR [1,35-2,01]
Lerro et coll., 2018b États-Unis	Idem	Applicateurs	679	Idem	Aldrine : Hypothyroïdie sous-clinique, augmentation de TSH et diminution de T4 Pendiméthaline : Hypothyroïdie sous-clinique, augmentation de TSH et augmentation anticorps anti-TPO Bromure de méthyl : Augmentation de T4 et diminution de la TSH Captane, EPTC : Augmentation de la TSH
Lerro et coll., 2015 États-Unis	Idem	Épouses des applicateurs	30 003	Utilisation de pesticides OP	Malathion associé au risque de cancer de la thyroïde : RR = 2,04 ; IC 95 % [1,14-3,63]

Tableau 17.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population	Nombre de sujets	Exposition Pesticides	Résultats
Freeman et coll., 2011 États-Unis	Cohorte prospective	Applicateurs d'atrazine	36 357	Utilisation d'atrazine	Augmentation de risque de cancer de la thyroïde dans les 2e et 4e quartiles d'exposition cumulée au cours de la vie
McLean et coll., 2009 Nouvelle Zélande	Cohorte rétrospective	Employés d'une scierie	293	Pentachlorophénol	Association entre la durée d'emploi et les désordres thyroïdiens
Nasterlack et coll., 2007 Allemagne	Cohorte rétrospective	Employés d'une usine d'herbicides	185	Poste de production de benzothiadiazine *versus* registre de cas	Pas d'association (mais puissance trop faible)
Toft et coll., 2006 Danemark	Cohorte	Travailleurs de serres appliquant pesticides	122	Pulvérisation de plus de 60 pesticides	Diminution de T4 libre, diminution de la TSH, augmentation de T3, T3 libre, et T4 libre dans la période la plus exposée *versus* la moins exposée
Smith, 1984 Angleterre	Cohorte prospective	Mélangeurs de pesticides *versus* travailleurs de procédés	45	Usine fabriquant de l'ETU	Diminution de T4 chez les mélangeurs, pas chez les travailleurs
Exposition en population générale					
Mulder et coll., 2019 Pays-Bas	Cohorte prospective	Femmes enceintes en population générale	715 sang maternel + 482 sang de cordon	Six métabolites de pesticides OP	Pas d'association
Chevrier et coll., 2019 Afrique du sud	Cohorte prospective	Couples mères-enfants	717	DDT/E sériques et concentrations urinaires de métabolites de pyréthrinoïdes	Pyréthrinoïdes associés positivement à la TSH, DDT associé négativement à T4 (garçons)
Cordier et coll., 2015 Guadeloupe	Cohorte prospective	Jeunes enfants (3 mois)	111	Chlordécone mesuré dans le sang de cordon et le lait	Cordon : augmentation de TSH chez les garçons ; lait : diminution de T4 (filles) et T3 libres

Tableau 17.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population	Nombre de sujets	Exposition Pesticides	Résultats
Zhang et coll., 2014a Japon	Cohorte prospective	Couples mères-nouveau-nés	147	3-PBA au 1er trimestre	Pas d'association avec la T4 libre et la TSH
Wohlfahrt-Veje et coll., 2011 Danemark	Cohorte rétrospective	Enfants nés de femmes travaillant dans les serres	145 dont 90 exposés	Exposition prénatale	Diminution de la TSH chez les exposés
Exposition résidentielle					
Wang et coll., 2002 États-Unis	Cohorte rétrospective	Femmes résidentes de fermes	6 310	Résidentes sur une ferme *versus* non-résidentes	Tendance à l'augmentation des cas de cancers de la thyroïde

3-PBA : acide 3-phénoxybenzoïque ; DDE : dichlorodiphényldichloroéthylène ; DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane ; EPTC : éthyl-dipropylthiocarbamate ; ETU : éthylène thiourée ; OC : organochlorés ; OP : organophosphorés ; Pyr : pyréthrinoïdes ; TSH : *Thyroid-Stimulating Hormone* (thyréostimuline ou thyrotropine) ; TPO : thyroperoxydase

Tableau 17.II : Récapitulatif des résultats d'études expérimentales sur les effets perturbateurs thyroïdiens des pesticides

Pesticide	Approche	Modèle	Paramètres	Références
Organophosphorés				
Chlorpyrifos	*in vitro*	PCCl3	Thyréocytes : ↓ ARNm Egr1, Hmga1, Zfp36l2	Porreca et coll., 2016
	in vivo	souris	T4 ↓ Thyréocytes : ↑ taille	De Angelis et coll., 2009
	in vivo	souris	TG ↓ T4 ↓ Thyréocytes : ↓ ARNm Egr1, Hmga1, Zfp36l2	Porreca et coll., 2016
	in vivo	poisson larve	T3 ↓	Holzer et coll., 2017
Diazinon	*in vivo*	poisson	TSH ↓ T3 ↓ T4 ↓	Katuli et coll., 2014
Malathion	*in vitro*	FRTL-5	TSHR ↓ TG ↓	Xiong et coll., 2018
	in vivo	rat	TSH↑ T3 ↓ T4 ↓	Akhtar et coll., 1996
	in vivo	poisson larve	T3 ↓ T4 ↓ TR ↓ Thyréocytes : ↑ taille	Ortiz-Delgado et coll., 2019
Monocrotophos	*in vivo*	poisson	TRH↓ TSH↓ T3↓ TTR↑ D2↓, D1 et D3↑ Thyréocytes : hyperplasie	Zhang et coll., 2013b ; Zhang et coll., 2014b ; Zhang et coll., 2018
Carbamates				
Mancozèbe	*in vivo*	oiseau	TSH ↓ T3 ↓ T4 ↓ Hypertrophie thyroïdienne et altération du colloïde	Pandey et Mohanty, 2015
	in vivo	rat	T4 ↓	Axelstad et coll., 2011
Thirame	*in vivo*	poisson	TPO ↓ D3↑	Chen et coll., 2019
Éthylène thiourée	*in vitro*	PCCl3	Thyréocytes : ↓ ARNm Egr1, Hmga1, Zfp36l2	Porreca et coll., 2016
	in vivo	souris	TG↓ T4↓ Thyréocytes : ↓ ARNm Egr1, Hmga1, Zfp36l2	Porreca et coll., 2016
	in vivo	rat	TSH ↓ T3↓ T4↓ Thyréocytes : vacuolisation, ↓colloïde	Maranghi et coll., 2013

Tableau 17.II : (suite)

Pesticide	Approche	Modèle	Paramètres	Références
Organochlorés				
DDT/DDE	*in vitro*	CHO	TSHR↓	Santini et coll., 2003 ; De Gregorio et coll., 2011
	in vivo	rat	TSH↓ T3↓ T4↓ Thyréocytes : ↑ taille et ↑↑transport vésiculaire	Yaglova et Yaglov, 2014 ; Yaglova et Yaglov, 2017
	in vivo	rat	TSH↓ T3↓ T4↓ TTR↓ UGT↑ ↓D2 TR↑	Liu et coll., 2011 ; Liu et coll., 2014
	in vivo	poisson (SNC)	TSH↓ TR↑	Mortensen et Arukwe, 2006
	in vivo	batracien XETA	TH/bZIP:GFP↑ (si T3)	Fini et coll., 2007
Hexachlorobenzène	*in vitro*	FRTL-5	Thyréocytes : inhibition de croissance	Chiappini et coll., 2014
	in vivo	rat	T4↓ UGT↑ D1↑	Alvarez et coll., 2005
	in vivo	rat	TSH↑ T4↓ TTR↑	van Raaij et coll., 1993
	in vivo	batracien XETA	TH/bZIP:GFP↑ (si T3)	Fini et coll., 2007
Pentachlorophénol	*in vitro*	CHO	TR↓	Yu et coll., 2019
	in vitro	GH3	D1↓	Guo et Zhou, 2013
	in vivo	poisson larve	TSH↑ NIS↑ T3↑ T4↓ D1 et D2↑ TR↑	Guo et Zhou, 2013 ; Cheng et coll., 2015
	in vivo	poisson adulte	TSH↓ T3↓ (M) T4↑ TTR↓ (M) ↑ (F) SULT↓ (F) ↑ (M) UGT↑ D1↓ D2↑(F) ↓(M) TR↓ (M)	Yu et coll., 2014
Endosulfan	*in vivo*	poisson	T4↓ D1↓ D3↑	Coimbra et coll., 2005
Métolachlore	*in vivo*	poisson juvénile	TRH↑ D2↑ TR↑	Jin et coll., 2011
Acétochlore	*in vivo*	poisson larve	NIS↓ D2 et D1↓ TR↓	Li et coll., 2009
	in vivo	poisson adulte	NIS↓ (F) T3↓ T4↓ D2 ↓ TR↑	Li et coll., 2009

Tableau 17.II : (suite)

Pesticide	Approche	Modèle	Paramètres	Références
Pyréthrinoïdes				
l-cyhalothrine	*in vitro*	CV-1	TR↓	Du et coll., 2010
	in vivo	poisson	TR↓	Zhang et coll., 2017
	in vivo	rat	TSH↑ T3↓ T4↓	Akhtar et coll., 1996
	in vivo	poisson	T3↑ T4↑ TTR↑ UGT↑ D2↑, D1↓ TR↑	Tu et coll., 2016a
Fenvalérate	*in vitro*	CV-1	TR↓	Du et coll., 2010
	in vivo	souris	TR↓	Wang et coll., 2017a
	in vivo	rat	T3↑	Giray et coll., 2010
	in vivo	souris	T3↓ T4↓ Désiodases↓	Maiti et coll., 1995
	in vivo	poisson	TR↓	Zhang et coll., 2017
Perméthrine	*in vitro*	CV-1	TR↓	Du et coll., 2010
	in vivo	poisson	TR↓	Zhang et coll., 2017
	in vivo	poisson	TSH↑ TPO↑ T3↑ T4↑ TTR↑ D1 et D2 ↑ TR↑	Tu et coll., 2016b
Autres				
Chlorothalonil	*in vitro*	CHO	TR↑	Zhang et coll., 2016
Glyphosate	*in vivo*	rat	TSH↓ OATP ↓ D2 et D3↓	de Souza et coll., 2017
Trifluraline	*in vivo*	rat	TSH↑ T3↓ T4↓ UGT↑	Saghir et coll., 2008
Fluopyram	*in vivo*	souris	TSH↑ T4↓ UGT↑ Thyréocytes : hyperplasie	Rouquié et coll., 2014
Imidaclopride	*in vitro*	GH3	TR↑	Xiang et coll., 2017
	in vivo	oiseau	TSH↓ T3↓ T4↓ Altération du colloïde	Pandey et Mohanty, 2015
Fipronil	*in vitro*	CHO-K1	TR↓	Lu et coll., 2015
	in vivo	rat	TSH↑ T3↓ T4↓	Leghait et coll., 2009
	in vivo	rat	OATP↑ SULT↑ UGT↑	Roques et coll., 2013
	in vivo	brebis	TSH, T3 et T4 inchangés	Leghait et coll., 2010

D1, D2, D3 : désiodase de type I, II et III ; Egr1 : *Early growth response protein 1* ; F : femelles ; Hmga1 : *High-mobility group AT hook 1* ; M : mâles ; OAPT : *organic anion transporting polypeptide* ; SNC : système nerveux central ; SULT : sulfotransférase ; T3 et T4 : hormones thyroïdiennes ; TRH : *Thyrotropin-Releasing Hormone* (l'hormone thyréotrope) ; TSH : *thyroxine stimulating hormone* ; TSHR : récepteur de la TSH ; NIS : symport iode-sodium ; TG : thyroglobuline ; TPO : thyroperoxydase ; TTR : transthyrétine ; TR : récepteur des hormones thyroïdiennes ; UGT : uridine diphospho-glucuronosyltransférase ; Zfp36l2 : *Zinc Finger Protein 36, CH3 Type-Like 2*

Addenda : Modèles et tests pour analyser l'effet des perturbateurs de la fonction thyroïdienne

Tests réglementaires des agences européennes pour identifier les agents perturbateurs endocriniens

L'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) a publié en 2014, et a révisé en 2018, un document guide pour identifier les principes actifs phytopharmaceutiques et biocides présentant une activité de perturbateur endocrinien (régulations EU #528/2012 et EC #1107/2009) (OECD, 2014 ; OECD, 2018). Les tests ciblent les régulations des voies EATS (*Estrogenic, Androgenic, Thyroidal, Steroidogenic*) et sont organisés en 5 niveaux décrits ci-dessous (les essais réglementaires européens[70] correspondants sont rapportés) :

Niveau 1 : recueil de données pour trier et prioriser (inclus également (Q)SAR)

Tri et classement sur les informations existantes telles que les propriétés physico-chimiques, données écotoxicologiques, lecture croisée (prédire les caractéristiques toxicologiques d'une substance à partir des connaissances disponibles sur la base de la littérature pour d'autres molécules similaires), famille chimique, relation entre une activité et les propriétés physico-chimiques et structurales d'une molécule ((Q)SAR ; *(Quantitative) Structure-Activity Relationship*), modèles de prédiction des propriétés ADME (absorption, distribution, métabolisme, excrétion).

Niveau 2 : tests in vitro *sur cellules, à visée mécanistique (criblage)*

Ces tests sont destinés à dépister l'existence d'un danger, et il est recherché un effet délétère, sans évaluer un risque dans le cadre de l'utilisation prévue de la substance. Les essais sont issus de modèles mammifères et non mammifères. Certains de ces tests sont adaptés au criblage haut débit. Les essais réglementaires évaluent la liaison des œstrogènes (OECD TG 493), la transactivation des récepteurs aux œstrogènes (OECD TG 455, ISO 19040-3) ou androgènes (OECD TG 458), le criblage d'une activité œstrogène chez la levure recombinante (ISO 19040-1&2).

70. *Organisation for Economic Co-operation and Development Test Guideline* (OECD TG) ou *Guidance Document* (OECD GD).

Niveau 3 : tests sur organismes entiers avec un seul agent, reproduisant les mécanismes spécifiques des critères de perturbation

Ces tests « court terme » ont pour but de confirmer l'existence du danger, de fournir une première indication du niveau de dose auquel le danger peut se réaliser *in vivo*. Les essais réglementaires évaluent :

• chez les mammifères les effets œstrogéniques et anti-œstrogéniques (OECD TG 440, OECD GD 71) ainsi que les effets androgéniques et anti-androgéniques (OECD TG 441, OECD GD 115) avec la possibilité d'un dosage du niveau plasmatique de T3/T4 pour évaluer l'effet sur le système thyroïdien ;

• chez les espèces non mammifères, la reproduction à court terme chez les poissons (OECD TG 229, 230 et OECD GD 148). Un essai de détection de molécules actives sur les récepteurs aux œstrogènes utilise des embryons de *Danio rerio* cyp19a1b :GFP (promoteur de l'aromatase exprimée dans le cerveau couplé au gène rapporteur *Green Fluorescent Protein*, GFP) (EASZY *assay*, en cours d'évaluation OECD). Chez les batraciens, un essai de métamorphose chez *Xenopus laevis*, test AMA (*amphibian metamorphosis assay*, OECD TG 231), un essai d'identification de perturbateurs de la fonction thyroïdienne, test XETA (*xenopus embryonic thyroid signaling assay*, OECD TG 248).

Niveau 4 : tests sur organismes entiers, reproduisant l'effet néfaste spécifique des critères de perturbation

Ces tests permettent d'approfondir la compréhension des mécanismes d'action toxiques avec une exposition chronique des organismes pour étudier la toxicité à long terme tout en ouvrant l'analyse à des effets sur le développement et la reproduction. Les essais réglementaires évaluent :

• chez les mammifères la toxicité chronique par voie orale chez les rats (OECD TG 407, 408) ou un non-rongeur (en général le chien : OECD TG 409), par inhalation chez les rongeurs (28 jours : OECD TG 412 ou 90 jours OECD TG 413) le développement prénatal chez les rats ou lapins (OECD TG 414) ou la toxicité cutanée chez les rongeurs ou le lapin (21/28 jours : OECD TG 410, 90 jours OECD TG 411) ; la reproduction et le développement (OECD TG 421), la reproduction sur une génération chez les rats ou souris (OECD TG 415, 422) ; le développement et la neurotoxicité chez les rats (OECD TG 426) ; la toxicité chronique et cancérogenèse chez les rats ou souris (OECD TG 451-3) ;

• chez les espèces non mammifères, un effet inhibiteur œstrogène, androgène ou stéroïdogène testé sur le développement et la différenciation sexuelle

des poissons (OECD TG 234) ; la toxicité sur des poissons exposés au stade d'embryons (OECD TG 210) ; la croissance et le développement de larves d'amphibiens (LAGDA, *Larval Amphibian Growth and Development Assay*, OECD TG 241) ; la reproduction chez les oiseaux (OECD TG 206) ou chez les mollusques (*Potamopyrgus antipodarum* : OECD TG 242, *Lymnaea stagnalis* : OECD TG 243).

Niveau 5 : tests sur organismes entiers renseignant sur les effets perturbateurs endocriniens et autres mécanismes, sur tout le cycle de vie

Les essais réglementaires évaluent :

- chez les mammifères la toxicité de la reproduction sur deux générations chez les rongeurs (OECD TG 416, 443) ;
- chez les espèces non mammifères, la reproduction sur une génération chez le médaka (*Oryzias latipes*, OECD TG 240), une espèce de poissons de la famille des *Adrianichthyidae* ; la toxicité sur le cycle de vie des chironomes (diptères d'eau douce) dans un système eau-sédiment chargé ou eau chargée-sédiment (OECD TG 233).

Méthodes d'identification des agents perturbateurs de la fonction thyroïdienne

Tests in vivo *chez les mammifères*

Aucun test réglementaire chez les mammifères (principalement le rat) n'est conduit spécifiquement pour dépister la perturbation de la fonction thyroïdienne en première intention. Les effets sur la fonction thyroïdienne sont évalués par des tests de dosage des hormones thyroïdiennes (HT) T3 et T4 et plusieurs essais[71] correspondant à des niveaux 3 ou 4 ci-dessus et qui sont orientés vers la reproduction et les impacts sur la régulation des hormones sexuelles. Ces tests correspondent à une question de toxicologie générale et reposent en général sur trois doses d'exposition qui correspondent à une faible, voire forte, toxicité générant des effets non spécifiques. En outre, les THDC (*thyroid hormone disrupting chemicals*) peuvent être actifs à différentes concentrations internes en rapport avec une courbe effet non monotone, ce qui génère discussions et confusion sur l'interprétation des résultats expérimentaux.

71. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques : https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals_72d77764-en [consulté le 27 octobre 2020].

Chez le rat, animal de référence pour la quasi-totalité des tests validés par l'OCDE chez les mammifères, parmi les organes analysés en histopathologie il est classiquement indiqué dans les lignes directrices OCDE en toxicité chronique d'examiner la thyroïde et l'hypophyse (parfois sans la « pars distalis ») (Crissman et coll., 2004) mais non l'hypothalamus très difficilement prélevable à l'autopsie. En biochimie les dosages de la TSH (*thyroid stimulating hormone*) circulante et des hormones T3 et T4 (totale ou libre) sont réalisés. Sur la base de ces analyses la différenciation est cependant difficile entre une action centrale *versus* un effet se produisant spécifiquement sur les évènements en aval de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien (*Hypothalamic-Pituitary-Thyroid* ; *HPT*) (Dallot, 2015).

Tests in vivo *chez les non-mammifères*

Si le modèle rongeur, avec ses limites (Bianco et coll., 2014), participe à l'évaluation des perturbateurs thyroïdiens, d'autres modèles ont été développés principalement chez les poissons et les batraciens. Les essais de niveau 3, OECD TG 229 (test de reproduction court terme chez les poissons) OECD TG 230 (toxicité 21 jours chez les poissons) ne donnent pas d'information spécifique d'une perturbation de la fonction thyroïdienne. En revanche un essai, le test de métamorphose AMA (OECD TG 231) chez les amphibiens intègre potentiellement tous les mécanismes possibles de perturbation de la fonction thyroïdienne puisque le paramètre étudié, la métamorphose, est un effet apical des HT. Cette approche est intéressante du fait de la grande conservation de l'axe HPT entre les espèces (Paris et Laudet, 2008 ; Buchholz, 2017). Le test XETA (Fini et coll., 2007), validé en 2019 (OECD TG 248), utilise une lignée transgénique de *X. laevis* Tg(thibz :eGFP), qui exprime le gène rapporteur GFP sous le contrôle d'un élément de réponse aux récepteurs thyroïdiens (TRE) du promoteur du gène TH/bZIP, un facteur de transcription hautement régulé par les HT (Furlow et Brown, 1999). Le test est basé sur des critères physiologiques de perturbation thyroïdienne tels qu'ils sont définis par l'essai OECD TG 231. Les têtards ont pour avantage de bénéficier de la grande conservation de la signalisation thyroïdienne chez les vertébrés et d'autre part de donner accès au suivi de l'organogenèse, un stade de développement difficile à suivre pour les modèles mammifères. La quantification des variations du signal GFP est indicatrice de l'altération de la biodisponibilité des HT.

Les essais de niveau 4, OECD TG 206 (test de reproduction chez les oiseaux), OECD TG 210 (toxicité chez les embryons des poissons), OECD TG 234 (développement sexuel chez les poissons), OECD TG 242 (toxicité chez le mollusque *Potamopyrgus antipodarum*), ou OECD TG 243 (toxicité chez le

mollusque *Lymnaea stagnalis*) n'apportent pas de données spécifiques d'une perturbation de la fonction thyroïdienne. Le test LAGDA (OECD TG 241) avec une exposition chronique chez le xénope sur une génération permet d'évaluer des paramètres de la fonction thyroïdienne ; les dosages de T4 et de TSH et l'analyse histopathologique de la thyroïde sont inclus et la connaissance du temps requis pour la métamorphose est un paramètre d'un impact d'une perturbation thyroïdienne.

Les essais de niveau 5, OECD TG 233 (toxicité sur le cycle de vie des chironomes) ou OECD TG 240 (essai sur une génération étendue chez le poisson *Oryzias latipes*) permettent de suivre voire quantifier des paramètres tels que croissance, développement et comportement qui ne sont pas spécifiques d'une perturbation de la fonction thyroïdienne.

En conclusion, il serait utile d'ajouter des paramètres additionnels dans le contexte de la neurotoxicité (OECD TG 421, 422), tels que la migration et prolifération neuronale, la différenciation des oligodendrocytes, l'histogenèse du cervelet, « *endpoints* » plus pertinents pour évaluer une potentielle perturbation de la fonction thyroïdienne (Dugas et coll., 2012 ; Picou et coll., 2012 ; Dezonne et coll., 2015 ; Préau et coll., 2015). Les essais reposant sur des modèles d'embryons de poissons ou d'amphibiens se révèlent d'un grand intérêt en raison de la conservation de la voie de signalisation des HT illustrée par *i*) le domaine de liaison des TRα et β pour le ligand T3, *ii*) le domaine de liaison à l'ADN et *iii*) la séquence de liaison des TRE à l'ADN (Paris et Laudet, 2008). La conservation est également retrouvée au niveau de la glande thyroïde des vertébrés, avec l'iodation et l'organification ainsi que les protéines sériques de liaison et les désiodases.

Tests in vitro

De nombreux tests *in vitro* ciblant la fonction thyroïdienne adaptés au criblage haut débit ont été intégrés aux programmes ToxCast et Tox21 (Thomas et coll., 2018). Dans le cadre du développement des méthodes d'évaluation d'effets perturbateurs endocriniens, l'OCDE a publié en 2017 un guide des essais d'évaluation des THDC (OECD, 2017). Ces tests présentent les limitations suivantes, outre la question du rapport entre les données obtenues *in vivo* et *in vitro* : *i*) contrairement aux organismes ou aux cellules spécialisées telles que les hépatocytes, tous les modèles *in vitro* ne disposent pas des capacités métaboliques d'oxydation, de dégradation et/ou de conjugaison des THDC ; *ii*) en physiopathologie, un effet peut être réversible et plusieurs cibles peuvent être touchées ; *iii*) parfois le toxique ultime n'est pas le principe actif utilisé pour l'exposition qui interagit avec ses cibles, mais un métabolite qui, s'il est connu, doit être testé. En outre, une batterie de tests est

nécessaire pour caractériser une activité perturbatrice de la fonction thyroïdienne.

Les nombreux tests construits tirent bénéfice des connaissances acquises sur les cibles et leur fonctionnement (revue dans Murk et coll., 2013). La perturbation de la fonction thyroïdienne est mise en évidence par des essais ciblant la signalisation HPT, la production des HT (perturbation du symport Na^+/I^- (NIS), thyroperoxydase ou TPO, désiodases), le transport avec la liaison à la transthyrétine (TTR) ou à la *thyroxine-binding globulin* (TBG), la réponse cellulaire (par exemple des essais de transactivation du récepteur des HT). Une liste courte et non exhaustive des tests (niveau 2 dans l'évaluation) illustre la possibilité d'étudier chacune des cibles potentielles :

- ***Régulation de l'axe hypothalamo-pituitaro-thyroïdien***

Deux hormones participent à la régulation de l'axe thyréotrope : *i*) la TRH (*thyrothropin-releasing hormone*) secrétée par le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus puis libérée dans le système porte hypothalamo-hypophysaire se lie aux récepteurs hypophysaires (récepteur transmembranaire couplé aux protéines G) et régule la formation et sécrétion de TSH ; et *ii*) la TSH produite par l'antéhypophyse, libérée dans la circulation sanguine se lie à son récepteur au niveau des thyréocytes (récepteur transmembranaire couplé aux protéines G), a pour rôle le contrôle et stimulation de la thyroglobuline, du symport NIS et de la thyroperoxydase. De nombreux tests sont utilisés pour étudier ces processus :

Production et régulation de l'hormone thyréotrope (TRH)

La régulation négative de la transcription de la TRH par la T3 (Koller et coll., 1987), a pu être reproduite dans les modèles cellulaires suivants : la lignée de cellules rénales de singe CV-1 (Ohba et coll., 2011) ou la lignée de cellules placentaires humaines JEG-3 (Flynn et coll., 1994) transfectées avec le TRβ, la lignée humaine de glioblastome-astrocytome (U-373 MG) et les cultures primaires de neurones hypothalamiques de poussin (Lezoualc'h et coll., 1992) et de rat (Carreón-Rodríguez et coll., 2009).

Activation du récepteur hypophysaire de la TRH (TRH-R, couplé à l'influx de Ca^{2+})

La lignée cellulaire hypophysaire de rat GH3 a pour particularité une production de prolactine régulée non seulement par la dopamine mais aussi par la TRH via l'activation de la kinase ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) (Mijiddorj et coll., 2011). Le suivi de production de la prolactine est un

indicateur de la stimulation du récepteur membranaire TRH-R. La lignée Chem-1 est utilisée pour mesurer indirectement la stimulation du récepteur de la TRH humain par les variations de flux de calcium intracellulaire (test commercial ChemiScreen™ TRH *Thyrotropin-Releasing Hormone Receptor Stable Cell Line*).

Fonctionnement du récepteur de la TSH (TSH-R, couplé à la production d'AMPc)

Des lignées transfectées permettent de suivre l'activité ou les modifications du TSH-R suite à une exposition à des produits chimiques. La lignée CHO transfectée avec le récepteur de la TSH (Santini et coll., 2003 ; De Gregorio et coll., 2011) permet d'évaluer l'activité du récepteur par dosage de la production d'AMPc. Les lignées CHO, COS-7 et HeLa ont été transfectées avec le TSH-R pour étudier l'effet de pesticides sur le mécanisme d'internalisation du récepteur et ont mis en évidence un effet inhibiteur de cette réaction par le DDT (De Gregorio et coll., 2011). La lignée HEK293-TSH-R (utilisée dans le cadre du programme ToxCast de l'Agence américaine de protection de l'environnement) est utilisée pour étudier l'activation ou l'inhibition du TSH-R en utilisant l'AMPc comme marqueur (Neumann et coll., 2010).

Entrée d'iode médiée par le symport NIS

L'évaluation de l'activation du symport sodium/iodure est classiquement mesurée par l'augmentation de la radioactivité des cellules FRTL-5 mises en présence d'iode radio-(^{125}I) (Schmutzler et coll., 2007). La mesure de l'incorporation d'iode radiomarqué est également documentée pour la lignée humaine hNIS-HEK293T-EPA exprimant le NIS humain (Hallinger et coll., 2017).

Activité de la TPO

La fonction de la TPO est classiquement évaluée *in vitro* sur extrait cellulaire ou microsomes de thyroïde à l'aide d'un essai d'oxydation du guaiacol (Paul et coll., 2013). Un test plus sensible sur microsomes de thyroïde, le test AUR-TPO (*Amplex UltraRed TPO Inhibition Assay*) utilise un excès de peroxyde d'hydrogène et de substrat (*Amplex UltraRed*), l'activité peroxydase de la TPO étant mesurée par la perte de fluorescence du substrat une fois oxydé (Paul et coll., 2014).

Production des HT

La production des HT est mesurée par *i*) un dosage soit immunologique soit en LC-MS/MS réalisé sur des follicules isolés (*ex vivo*) ; *ii*) des essais permettent de quantifier l'expression de gènes impliqués dans la synthèse des HT ou dans la prolifération des thyréocytes (*Tpo*, *Tg*, *Duox1*, *Notch1*, *Pttg1*, et *Gtse1*).

- ***Liaison et transport sérique des HT***

Puisque les HT se lient aux transporteurs sériques TBG, TTR et albumine, plusieurs essais ont été développés pour quantifier ces interactions. Un essai de déplacement de T4 pour TBG ou TTR est proposé à l'aide par exemple d'une puce Biacore recouverte de T4 ; le suivi de la T4 radiomarquée (^{125}I-T4) mesure spécifiquement et quantitativement le déplacement de la T4 endogène de la TTR avec séparation de la fraction liée à cette dernière (Weiss et coll., 2009) ; la fixation d'un isotope stable de la T4 ($^{13}C_6$-L-Thyroxine) est déterminée sur la TBG et/ou la TTR avec un dosage en LC-MS/MS ; le déplacement d'un marqueur fluorescent (sel d'ammonium de l'acide 8-anilino naphtalène sulfonique) des transporteurs est mesuré par spectrofluorométrie (Cao et coll., 2010).

Il est intéressant de noter que la TBG est quasiment absente chez le rongeur adulte, ce qui pourrait expliquer la différence de sensibilité à certains THDC entre le rat et l'être humain. En conséquence, la TTR et l'albumine transportent la quasi-totalité (99,9 %) des HT chez le rongeur. Comme cela a été noté par Leghait, les espèces dépourvues de TBG seraient donc plus sensibles aux perturbateurs thyroïdiens, notamment à ceux augmentant l'élimination des HT (Leghait, 2008). Les perturbations thyroïdiennes par augmentation du catabolisme des HT observées chez le rat sont donc souvent considérées comme une particularité d'espèce.

- ***Métabolisme des HT***

Les HT sont déiodées dans les organes cibles avec production de métabolites actifs ou inactifs (Bianco et Kim, 2006) et métabolisées au niveau hépatique pour être excrétées après conjugaison ou sulfatation (Visser, 1994 ; Visser, 1996 ; Wu et coll., 2005 ; Bianco et Kim, 2006).

Induction d'UGT (UPG-glucuronyltransférases) et de SULT (sulfotransférases)

Ces enzymes interviennent dans la métabolisation et l'excrétion des HT chez le rat. Leur induction dans le foie, ainsi qu'une augmentation du poids du foie peuvent refléter une perturbation de la fonction thyroïdienne. Le suivi

de l'expression des gènes codant les UGT et SULT est réalisé *in vitro* par RT-qPCR sur des cellules de la lignée HepaRG ou sur hépatocytes de rats ou humains cryopréservés (*Liverbeads*).

Déiodation

L'activité de déiodation peut être suivie en incubant la T4 radiomarquée avec des extraits cellulaires (par exemple de la lignée FTRL-5) ou de microsomes suivis par la quantification de l'iode radioactif libéré. L'utilisation du propylthiouracile comme inhibiteur spécifique de la désiodase 1 permet la comparaison avec les activités des désiodases 2 et 3 (Schmutzler et coll., 2007). Une technique colorimétrique est proposée pour tester l'activité des désiodases (Renko et coll., 2012). L'activité des désiodases de type I, II ou II peut être suivie en quantifiant l'expression des gènes dio1, 2, 3 ou les protéines. L'expression des désiodases est une source de variabilité des effets physiopathologiques des perturbateurs de la fonction thyroïdienne entre espèces, par exemple entre le rat et l'être humain (Gereben et coll., 2015).

- ***Distribution subcellulaire des HT***

Puisque le processus de diffusion passive des HT est limité, le passage intracellulaire est réalisé via différents transporteurs non spécifiques. Les cellules cibles expriment avec quelques exceptions (intégrine $\alpha_v\beta_3$, voir ci-après dans « Réponses cellulaires aux HT ») des transporteurs membranaires incluant MCT8 et 10 (*monocarboxylate transporter*), LAT1 et 2 (*L-type amino acid transporter*), OATP1C1 (*organic anion-transporting polypeptide 1c1*) (Visser et coll., 2011 ; Bernal et coll., 2015). Les transporteurs MCT8 et 10 ont une activité bidirectionnelle et sont fortement exprimés dans le foie, le rein et la glande thyroïde avec pour conséquence un influx et efflux de T3 et T4 assurant le maintien d'un équilibre. Le suivi de ce transport est réalisé sur des cellules transfectées (COS, HEK293, MDCK, JEG, HeLa, GH3...) exprimant spécifiquement MCT8, MCT10, LAT1/2 ou OATP1C1.

- ***Réponses cellulaires aux HT***

L'activité des HT est déterminée *via* l'interaction avec les TR nucléaires, des variants des TR, l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ et des changements de l'architecture chromatinienne qui modifient l'accessibilité des HT aux TRE (Sirakov et Plateroti, 2011 ; Cioffi et coll., 2013). Les essais examinent soit l'interaction ligand-récepteur, soit l'activité des promoteurs ou bien l'interaction récepteurs/corépresseurs ou autres « interactants ». Un essai de prolifération cellulaire peut aussi détecter les agonistes ou antagonistes des TR. Il est important de noter que la liaison de T3 dans la poche de liaison des TR est

hautement spécifique ce qui implique que ce mécanisme de dérégulation induit par des perturbateurs thyroïdiens est peu illustré (Gauger et coll., 2004) en rapport avec la diversité de structures chimiques des THDC (Mughal et coll., 2018).

Liaison aux récepteurs TRα ou TRβ

Un essai de liaison compétitive est réalisé avec un radio-ligand sur des cellules, par exemple la lignée MtT/E-2 (cellules hypophysaires de rat) (Kitamura et coll., 2005). Des cellules ont été transfectées transitoirement par des constructions qui permettent le suivi de l'activité des récepteurs par une réaction de luminescence : des cellules HeLa exprimant les constructions entre le domaine de liaison du récepteur (LBD : *Ligand Binding Domain*) pGAL4-TRα-puro et la luciférase sous contrôle de GAL4, pGAL4RE-ERE-βGlob-Luc-SVNeo (Fini et coll., 2012) ; des cellules HepG2 exprimant les constructions Gal4-L-TRβ, pUAS-tk-luc et phRL-tk (Sun et coll., 2008). La séquence du LBD peut être exprimée en fusion avec la thymidilate synthétase chez E. coli permettant d'associer la croissance bactérienne à la liaison d'un agoniste avec TRα1 ou TRβ1 (Gierach et coll., 2012). Des essais utilisent la transfection stable de constructions TRα ou TRβ en fusion avec le gène codant pour la luciférase dans différentes lignées cellulaires : cellules pituitaires de rat GH3 testant TRα et TRβ (Freitas et coll., 2011), lignée de cellules de xénope XL58 testant TRβ (Sugiyama et coll., 2005), lignée de phéochromocytome de rat PC12 testant TRα1 (Jugan et coll., 2007).

Liaison au récepteur de type intégrine $\alpha_v\beta_3$

L'intégrine $\alpha_v\beta_3$, originellement identifiée comme le récepteur de la vitronectine, peut lier un grand nombre de ligands protéiques ou non protéiques (Davis et coll., 2005) incluant les HT (Bergh et coll., 2005). L'activation de l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ par les HT initie un signal qui induit différentes réponses cellulaires impliquées dans l'angiogenèse, la prolifération cellulaire (Stenzel et coll., 2014) et l'entrée du glucose intracellulaire (Incerpi et coll., 2014). Un essai peut être conduit sur la lignée CV-1 qui exprime l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ mais pas les récepteurs nucléaires aux HT.

Co-activateurs ou corépresseurs

Les co-activateurs SRC2 (*steroid receptor coactivator-2*) sont recrutés par le complexe récepteur-hormone (TR-T3) alors que les corépresseurs NCoR (*Nuclear receptor Co Repressor*) sont recrutés par les récepteurs libres (TR).

Ces corégulateurs interagissent avec le LBD des TR via une séquence peptidique conservée qui peut être utilisée pour tester le changement de conformation du récepteur lors de la liaison. Le LBD recombinant de TRα1 fusionné avec la glutathion S-transférase est utilisé dans une réaction de polarisation de fluorescence pour quantifier la liaison de peptides fluorescents SRC2 ou NCoR. L'activité du principe actif est testée en plaque 384 puits par dissociation du peptide corégulateur fluorescent du LBD TRα1 seul ou en présence de T3 (Lévy-Bimbot et coll., 2012).

Prolifération cellulaire induite par les HT

La prolifération des cellules GH3 qui expriment fortement les TR est dépendante de la présence de T3. Un essai, désigné « T-Screen », détecte des agonistes ou antagonistes sur le critère de la prolifération cellulaire (Ghisari et Bonefeld-Jorgensen, 2005). Cependant, de nombreux faux positifs par un mécanisme indépendant de l'effet prolifératif des HT représentent une limite de cet essai.

Conclusion

La complexité de la fonction thyroïdienne est illustrée par son implication dans de nombreuses voies de régulations métaboliques via l'interaction des hormones avec les TR des tissus cibles mais aussi via des réponses non génomiques (Liu et Brent, 2010 ; Hammes et Davis, 2015 ; Little, 2018). Ces actions non génomiques des HT sont initiées au niveau de récepteurs membranaires, du cytoplasme ou d'organelles qui peuvent être les récepteurs classiques TR ou de leurs variants ou bien l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ (Hammes et Davis, 2015). Au niveau du système nerveux central, celui-ci pourrait moduler le traitement de l'information reçue par les tissus périphériques induisant une régulation des actions locales dépendantes des HT. Enfin, une perturbation d'un niveau de régulation peut être compensée via des actions à un autre niveau (Di Cosmo et coll., 2013).

Bien que l'axe HPT et les processus physiologiques de base régulant la synthèse et la libération des HT soient qualitativement similaires d'une espèce à l'autre, il existe toutefois des différences quantitatives spécifiques pour chaque espèce (Janssen et Janssen, 2017). Ces différences complexifient la relation entre les changements de taux sérique des HT, y compris ceux induits par les différences de métabolisme. En outre, les capacités métaboliques d'une espèce et les différences de sensibilité dues à l'âge, doivent être prises en considération. En conséquence, la différence entre espèces quant à la

sensibilité à certaines maladies du développement induites par des modifications des niveaux d'HT ne peut pas être exclue.

Dans l'objectif de clarifier les critères sur lesquels se fonde une évaluation du risque des effets perturbateurs endocriniens, la Commission européenne a confié aux autorités réglementaires l'élaboration de lignes directrices pour l'interprétation des données provenant des études expérimentales sur les animaux. L'Echa et l'Efsa (2018) ont conclu, premièrement, que les substances induisant des modifications histopathologiques de la thyroïde (hypertrophie des cellules folliculaires, hyperplasie, néoplasie...), avec ou sans modification des niveaux circulants de HT, posent un risque d'insuffisance d'HT chez l'être humain adulte, ainsi que sur le développement neurologique pré- et post-natal de sa progéniture. De plus, les substances qui modifient les niveaux circulants de T3 et/ou T4, sans signes histopathologiques, présentent une préoccupation potentielle pour le neurodéveloppement. Finalement, en absence de données spécifiques sur la substance prouvant le contraire, les êtres humains et les rongeurs sont considérés comme étant également sensibles à la perturbation de la thyroïde (y compris dans les cas où l'induction hépatique est responsable de la clairance accrue de la HT).

L'évaluation du risque par les agences repose sur les résultats d'études épidémiologiques et d'expérimentations réalisées quasi-exclusivement chez les rongeurs avec quelques tests sur des lignées cellulaires. L'expérimentation chez les rongeurs n'a pas été organisée pour identifier un dysfonctionnement thyroïdien car à l'analyse histopathologique de la thyroïde, seuls les dosages de TSH, T4 et T3 ont été ajoutés. En outre, il est peu fréquent de trouver des résultats de tests transgénérationnels alors que le neurodéveloppement fœtal est sous la dépendance de perturbations de la régulation thyroïdienne.

En raison d'une part de différences entre l'être humain et les rongeurs (TBG, métabolisme et clairance hépatique...) et d'autre part de la conservation de la régulation thyroïdienne chez les vertébrés, il apparaît urgent de favoriser le développement d'essais chez les poissons ou batraciens et de bénéficier du processus de métamorphose de ces organismes qui dépend du contrôle thyroïdien (l'utilisation des larves étant rapide est une excellente alternative au modèle rongeur) mais aussi de tests *in vitro* spécifiques sur les cibles potentielles des THDC.

RÉFÉRENCES

• Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

Akhtar N, Kayani SA, Ahmad MM, *et al.* Insecticide-induced changes in secretory activity of the thyroid gland in rats. *J Appl Toxicol* 1996 ; 16 : 397-400.

Al-Shanti TA, Yassin MM. Pesticides impact on testicular and thyroid functions of farm workers in Gaza Strip. *Annals of British Medical Sciences* 2017 ; 3 : 3-9.

Alvarez L, Hernández S, Martinez-de-Mena R, *et al.* The role of type I and type II 5' deiodinases on hexachlorobenzene-induced alteration of the hormonal thyroid status. *Toxicology* 2005 ; 207 : 349-62.

Alvarez-Pedrerol M, Ribas-Fitó N, Torrent M, *et al.* Effects of PCBs, p,p'-DDT, p,p'-DDE, HCB and beta-HCH on thyroid function in preschool children. *Occup Environ Med* 2008 ; 65 : 452-7.

Asawasinsopon R, Prapamontol T, Prakobvitayakit O, *et al.* The association between organochlorine and thyroid hormone levels in cord serum: a study from northern Thailand. *Environ Int* 2006 ; 32 : 554-9.

Axelstad M, Boberg J, Nellemann C, *et al.* Exposure to the widely used fungicide mancozeb causes thyroid hormone disruption in rat dams but no behavioral effects in the offspring. *Toxicol Sci* 2011 ; 120 : 439-46.

Barr DB, Allen R, Olsson AO, *et al.* Concentrations of selective metabolites of organophosphorus pesticides in the United States population. *Environ Res* 2005 ; 99 : 314-26.

Barry KH, Goulet V., Coutant R., *et al.* Hypothyroïdie congénitale en France : analyse des données recueillies lors du dépistage néonatal de 2002 à 2012. *Bull Epidemiol Hebd* 2015 : 239-47.

Barter RA, Klaassen CD. UDP-glucuronosyltransferase inducers reduce thyroid hormone levels in rats by an extrathyroidal mechanism. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992 ; 113 : 36-42.

Bergh JJ, Lin H-Y, Lansing L, *et al.* Integrin alphaVbeta3 contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and induction of angiogenesis. *Endocrinology* 2005 ; 146 : 2864-71.

Bernal J, Guadaño-Ferraz A, Morte B. Thyroid hormone transporters--functions and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol* 2015 ; 11 : 406-17.

Bhaskar R, Mohanty B. Pesticides in mixture disrupt metabolic regulation: in silico and in vivo analysis of cumulative toxicity of mancozeb and imidacloprid on body weight of mice. *Gen Comp Endocrinol* 2014 ; 205 : 226-34.

Bianco AC, Anderson G, Forrest D, *et al.* American Thyroid Association Guide to investigating thyroid hormone economy and action in rodent and cell models. *Thyroid* 2014 ; 24 : 88-168.

Bianco AC. Minireview: cracking the metabolic code for thyroid hormone signaling. *Endocrinology* 2011 ; 152 : 3306-11.

Bianco AC, Kim BW. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *J Clin Invest* 2006 ; 116 : 2571-9.

Blanco-Munoz J, Lacasana M, Lopez-Flores I, *et al*. Association between organochlorine pesticide exposure and thyroid hormones in floriculture workers. *Environ Res* 2016 ; 150 : 357-63.

Bloom MS, Weiner JM, Vena JE, *et al*. Exploring associations between serum levels of select organochlorines and thyroxine in a sample of New York state sportsmen. *Environ Res* 2003 ; 93 : 52-66.

Boeniger MF, Lowry LK, Rosenberg J. Interpretation of urine results used to assess chemical exposure with emphasis on creatinine adjustments: a review. *Am Ind Hyg Assoc J* 1993 ; 54 : 615-27.

Brent GA. Mechanisms of thyroid hormone action. *J Clin Invest* 2012 ; 122 : 3035-43.

Brouwer A, Morse DC, Lans MC, *et al*. Interactions of persistent environmental organohalogens with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol Ind Health* 1998 ; 14 : 59-84.

Buchholz DR. Xenopus metamorphosis as a model to study thyroid hormone receptor function during vertebrate developmental transitions. *Mol Cell Endocrinol* 2017 ; 459 : 64-70.

Burch HB. Drug effects on the thyroid. *N Engl J Med* 2019 ; 381 : 749-61.

Campos E, Freire C. Exposure to non-persistent pesticides and thyroid function: A systematic review of epidemiological evidence. *Int J Hyg Environ Health* 2016 ; 219 : 481-97.

Cao J, Lin Y, Guo L-H, *et al*. Structure-based investigation on the binding interaction of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers with thyroxine transport proteins. *Toxicology* 2010 ; 277 : 20-8.

Carreón-Rodríguez A, Charli J-L, Pérez-Martínez L. T3 differentially regulates TRH expression in developing hypothalamic neurons in vitro. *Brain Res* 2009 ; 1305 : 20-30.

Casas F, Rochard P, Rodier A, *et al*. A variant form of the nuclear triiodothyronine receptor c-ErbAalpha1 plays a direct role in regulation of mitochondrial RNA synthesis. *Mol Cell Biol* 1999 ; 19 : 7913-24.

Chatterjee S, Basak P, Chaklader M, *et al*. Pesticide induced alterations in marrow physiology and depletion of stem and stromal progenitor population: an experimental model to study the toxic effects of pesticide. *Environ Toxicol* 2014 ; 29 : 84-97.

Cheng Y, Ekker M, Chan HM. Relative developmental toxicities of pentachloroanisole and pentachlorophenol in a zebrafish model (Danio rerio). *Ecotoxicol Environ Saf* 2015 ; 112 : 7-14.

Chen X, Fang M, Chernick M, *et al*. The case for thyroid disruption in early life stage exposures to thiram in zebrafish (Danio rerio). *Gen Comp Endocrinol* 2019 ; 271 : 73-81.

Chevrier J, Rauch S, Obida M, *et al.* Sex and poverty modify associations between maternal peripartum concentrations of DDT/E and pyrethroid metabolites and thyroid hormone levels in neonates participating in the VHEMBE study, South Africa. *Environ Int* 2019 ; 131 : 104958.

Chevrier J, Eskenazi B, Holland N, *et al.* Effects of exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides on thyroid function during pregnancy. *Am J Epidemiol* 2008 ; 168 : 298-310.

Chiamolera MI, Wondisford FE. Minireview: Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism. *Endocrinology* 2009 ; 150 : 1091-6.

Chiappini F, Pontillo C, Randi A, *et al.* Hexachlorobenzene induces TGF-β1 expression, which is a regulator of p27 and cyclin D1 modifications. *Toxicol Lett* 2014 ; 230 : 1-9.

Cioffi F, Senese R, Lanni A, *et al.* Thyroid hormones and mitochondria: with a brief look at derivatives and analogues. *Mol Cell Endocrinol* 2013 ; 379 : 51-61.

Coimbra AM, Reis-Henriques MA, Darras VM. Circulating thyroid hormone levels and iodothyronine deiodinase activities in Nile tilapia (Oreochromis niloticus) following dietary exposure to Endosulfan and Aroclor 1254. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2005 ; 141 : 8-14.

Cordier S, Bouquet E, Warembourg C, *et al.* Perinatal exposure to chlordecone, thyroid hormone status and neurodevelopment in infants: the Timoun cohort study in Guadeloupe (French West Indies). *Environ Res* 2015 ; 138 : 271-8.

Cornelis R, Heinzow B, Herber RF, *et al.* Sample collection guidelines for trace elements in blood and urine. IUPAC Commission of Toxicology. *J Trace Elem Med Biol* 1996 ; 10 : 103-27.

Crissman JW, Goodman DG, Hildebrandt PK, *et al.* Best practices guideline: toxicologic histopathology. *Toxicol Pathol* 2004 ; 32 : 126-31. •

Dallot C. *Perturbation de la fonction thyroïdienne : mise en place d'une stratégie de criblage des produits chimiques :* Université Nice Sophia Antipolis. Thèse de Doctorat, 2015.

Darrouzet E, Lindenthal S, Marcellin D, *et al.* The sodium/iodide symporter: state of the art of its molecular characterization. *Biochim Biophys Acta* 2014 ; 1838 : 244-53.

Davis PJ, Goglia F, Leonard JL. Nongenomic actions of thyroid hormone. *Nat Rev Endocrinol* 2016 ; 12 : 111-21.

Davis PJ, Davis FB, Cody V. Membrane receptors mediating thyroid hormone action. *Trends Endocrinol Metab* 2005 ; 16 : 429-35.

De Angelis S, Tassinari R, Maranghi F, *et al.* Developmental exposure to chlorpyrifos induces alterations in thyroid and thyroid hormone levels without other toxicity signs in CD-1 mice. *Toxicol Sci* 2009 ; 108 : 311-9.

De Gregorio F, Pellegrino M, Picchietti S, *et al.* The insecticide 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethane (DDT) alters the membrane raft location of the TSH receptor stably expressed in Chinese hamster ovary cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2011 ; 253 : 121-9.

de Souza JS, Kizys MML, da Conceicao RR, *et al*. Perinatal exposure to glyphosate-based herbicide alters the thyrotrophic axis and causes thyroid hormone homeostasis imbalance in male rats. *Toxicology* 2017 ; 377 : 25-37.

Dentice M, Marsili A, Zavacki A, *et al*. The deiodinases and the control of intracellular thyroid hormone signaling during cellular differentiation. *Biochim Biophys Acta* 2013 ; 1830 : 3937-45.

Dezonne RS, Lima FRS, Trentin AG, *et al*. Thyroid hormone and astroglia: endocrine control of the neural environment. *J Neuroendocrinol* 2015 ; 27 : 435-45.

Di Cosmo C, Liao X-H, Ye H, *et al*. Mct8-deficient mice have increased energy expenditure and reduced fat mass that is abrogated by normalization of serum T3 levels. *Endocrinology* 2013 ; 154 : 4885-95.

Doerge DR, Takazawa RS. Mechanism of thyroid peroxidase inhibition by ethylenethiourea. *Chem Res Toxicol* 1990 ; 3 : 98-101.

Du G, Shen O, Sun H, *et al*. Assessing hormone receptor activities of pyrethroid insecticides and their metabolites in reporter gene assays. *Toxicol Sci* 2010 ; 116 : 58-66.

Dugas JC, Ibrahim A, Barres BA. The T3-induced gene KLF9 regulates oligodendrocyte differentiation and myelin regeneration. *Mol Cell Neurosci* 2012 ; 50 : 45-57.

Echa (European Chemicals Agency) and Efsa (European Food Safety Authority) with the technical support of the Joint Research Centre (JRC). Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations (EU) No 528/2012 and (EC) No 1107/2009. *EFSA J* 2018 ; 16 : e05311.

Efsa. Establishment of cumulative assessment groups of pesticides for their effects on the thyroid. *EFSA J* 2019 ; 17 : 5801.

Efsa PPR. Scientific Opinion on the identification of pesticides to be included in cumulative assessment groups on the basis of their toxicological profile (2014 update). *EFSA J* 2013 ; 11 : 3293.

Ehrenkranz J, Bach PR, Snow GL, *et al*. Circadian and circannual rhythms in thyroid hormones: determining the TSH and free T4 reference intervals based upon time of day, age, and sex. *Thyroid* 2015 ; 25 : 954-61.

Emmerson JL, Pierce EC, McGrath JP. The chronic toxicity of compound 36352 (trifluralin) given as a compound of the diet to the Fischer 344 rats for two years: Studies R-87 and R-97 (Elanco Products Co., Division of Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN). In : *Reregistration Eligibility Decision (RED) on trifluralin*, 1996.

Estaquio C, Valeix P, Leenhardt L, *et al*. Maladies thyroïdiennes dans la cohorte SU.VI.MAX. Estimation de leur incidence, 1994-2002. *Bull Epidemiol Hebd* 2009 : 445-8.

FAO et OMS. *Pesticide residues in food -1997: Report 1998 - Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticides Residues in Food and the Environment and the WHO Expert Group on Pesticide Residues*. Lyon, France, 1998 : 846 p. : https://apps.who.int/iris/handle/10665/42130

Fareed M, Pathak MK, Bihari V, *et al.* Adverse respiratory health and hematological alterations among agricultural workers occupationally exposed to organophosphate pesticides: a cross-sectional study in North India. *PLoS One* 2013 ; 8 : e69755.

Farwell AP, Lynch RM, Okulicz WC, *et al.* The actin cytoskeleton mediates the hormonally regulated translocation of type II iodothyronine 5'-deiodinase in astrocytes. *J Biol Chem* 1990 ; 265 : 18546-53.

Fini J-B, Mughal BB, Le Mével S, *et al.* Human amniotic fluid contaminants alter thyroid hormone signalling and early brain development in Xenopus embryos. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 43786.

Fini J-B, Riu A, Debrauwer L, *et al.* Parallel biotransformation of tetrabromobisphenol A in Xenopus laevis and mammals: Xenopus as a model for endocrine perturbation studies. *Toxicol Sci* 2012 ; 125 : 359-67.

Fini J-B, Le Mevel S, Turque N, *et al.* An in vivo multiwell-based fluorescent screen for monitoring vertebrate thyroid hormone disruption. *Environ Sci Technol* 2007 ; 41 : 5908-14.

Flamant F, Gauthier K, Samarut J. Thyroid hormones signaling is getting more complex: STORMs are coming. *Mol Endocrinol* 2007 ; 21 : 321-33.

Flynn TR, Hollenberg AN, Cohen O, *et al.* A novel C-terminal domain in the thyroid hormone receptor selectively mediates thyroid hormone inhibition. *J Biol Chem* 1994 ; 269 : 32713-6.

Fortenberry GZ, Hu H, Turyk M, *et al.* Association between urinary 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol, a metabolite of chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl, and serum T4 and TSH in NHANES 1999-2002. *Sci Total Environ* 2012 ; 424 : 351-5.

Freeman LEB, Rusiecki JA, Hoppin JA, *et al.* Atrazine and cancer incidence among pesticide applicators in the agricultural health study (1994-2007). *Environ Health Perspect* 2011 ; 119 : 1253-9.

Freire C, Koifman RJ, Sarcinelli PN, *et al.* Long-term exposure to organochlorine pesticides and thyroid status in adults in a heavily contaminated area in Brazil. *Environ Res* 2013 ; 127 : 7-15.

Freire C, Koifman RJ, Sarcinelli P, *et al.* Long term exposure to organochlorine pesticides and thyroid function in children from Cidade dos Meninos, Rio de Janeiro, Brazil. *Environ Res* 2012 ; 117 : 68-74.

Freire C, Lopez-Espinosa M-J, Fernández M, *et al.* Prenatal exposure to organochlorine pesticides and TSH status in newborns from Southern Spain. *Sci Total Environ* 2011 ; 409 : 3281-7.

Freitas J, Cano P, Craig-Veit C, *et al.* Detection of thyroid hormone receptor disruptors by a novel stable in vitro reporter gene assay. *Toxicol In Vitro* 2011 ; 25 : 257-66.

Freyberger A, Ahr H-J. Studies on the goitrogenic mechanism of action of N,N,N',N'-tetramethylthiourea. *Toxicology* 2006 ; 217 : 169-75. •

Furlow JD, Brown DD. In vitro and in vivo analysis of the regulation of a transcription factor gene by thyroid hormone during Xenopus laevis metamorphosis. *Mol Endocrinol* 1999 ; 13 : 2076-89.

Garmendia Madariaga A, Santos Palacios S, Guillen-Grima F, *et al.* The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2014 ; 99 : 923-31.

Garry VF, Holland SE, Erickson LL, *et al.* Male reproductive hormones and thyroid function in pesticide applicators in the Red River Valley of Minnesota. *J Toxicol Environ Health A* 2003 ; 66 : 965-86.

Gauger KJ, Kato Y, Haraguchi K, *et al.* Polychlorinated biphenyls (PCBs) exert thyroid hormone-like effects in the fetal rat brain but do not bind to thyroid hormone receptors. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 516-23.

Gereben B, McAninch EA, Ribeiro MO, *et al.* Scope and limitations of iodothyronine deiodinases in hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol* 2015 ; 11 : 642-52.

Ghisari M, Bonefeld-Jorgensen EC. Impact of environmental chemicals on the thyroid hormone function in pituitary rat GH3 cells. *Mol Cell Endocrinol* 2005 ; 244 : 31-41.

Gierach I, Li J, Wu W-Y, *et al.* Bacterial biosensors for screening isoform-selective ligands for human thyroid receptors α-1 and β-1. *FEBS Open Bio* 2012 ; 2 : 247-53.

Giray B, Cağlayan A, Erkekoğlu P, *et al.* Fenvalerate exposure alters thyroid hormone status in selenium- and/or iodine-deficient rats. *Biol Trace Elem Res* 2010 ; 135 : 233-41.

Goldner WS, Sandler DP, Yu F, *et al.* Hypothyroidism and pesticide use among male private pesticide applicators in the agricultural health study. *J Occup Environ Med* 2013 ; 55 : 1171-8.

Goldner WS, Sandler DP, Yu F, *et al.* Pesticide use and thyroid disease among women in the Agricultural Health Study. *Am J Epidemiol* 2010 ; 171 : 455-64.

Guo Y, Zhou B. Thyroid endocrine system disruption by pentachlorophenol: an in vitro and in vivo assay. *Aquat Toxicol* 2013 ; 142-143 : 138-45.

Hallinger DR, Murr AS, Buckalew AR, *et al.* Development of a screening approach to detect thyroid disrupting chemicals that inhibit the human sodium iodide symporter (NIS). *Toxicol In Vitro* 2017 ; 40 : 66-78.

Hammes SR, Davis PJ. Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2015 ; 29 : 581-93.

Herin F, Boutet-Robinet E, Levant A, *et al.* Thyroid function tests in persons with occupational exposure to fipronil. *Thyroid* 2011 ; 21 : 701-6.

Hernandez-Mariano JA, Torres-Sanchez L, Bassol-Mayagoitia S, *et al.* Effect of exposure to p,p -DDE during the first half of pregnancy in the maternal thyroid profile of female residents in a Mexican floriculture area. *Environ Res* 2017 ; 156 : 597-604.

Hichri M. *Étude omique de la régulation de la thyroïde par l'iode et du rôle de SLC5A8 dans la thyroïde :* Université Côte d'Azur. Thèse de Doctorat, 2018.

Holzer G, Besson M, Lambert A, *et al*. Fish larval recruitment to reefs is a thyroid hormone-mediated metamorphosis sensitive to the pesticide chlorpyrifos. *Elife* 2017 ; 6 : e27595.

Hurley PM. Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents. *Environ Health Perspect* 1998 ; 106 : 437-45.

Hu Y, Zhang Z, Qin K, *et al*. Environmental pyrethroid exposure and thyroid hormones of pregnant women in Shandong, China. *Chemosphere* 2019 ; 234 : 815-21.

Hwang M, Lee Y, Choi K, *et al*. Urinary 3-phenoxybenzoic acid levels and the association with thyroid hormones in adults: Korean National Environmental Health Survey 2012-2014. *Sci Total Environ* 2019 ; 696 : 133920.

Incerpi S, Hsieh M-T, Lin H-Y, *et al*. Thyroid hormone inhibition in L6 myoblasts of IGF-I-mediated glucose uptake and proliferation: new roles for integrin αvβ3. *Am J Physiol Cell Physiol* 2014 ; 307 : C150-61.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1001 p.

Janssen ST, Janssen OE. Directional thyroid hormone distribution via the blood stream to target sites. *Mol Cell Endocrinol* 2017 ; 458 : 16-21.

Jin Y, Chen R, Wang L, *et al*. Effects of metolachlor on transcription of thyroid system-related genes in juvenile and adult Japanese medaka (Oryzias latipes). *Gen Comp Endocrinol* 2011 ; 170 : 487-93.

Jugan ML, Lévy-Bimbot M, Pomérance M, *et al*. A new bioluminescent cellular assay to measure the transcriptional effects of chemicals that modulate the alpha-1 thyroid hormone receptor. *Toxicology in Vitro* 2007 ; 21 : 1197-205.

Kartheek RM, David M. Assessment of fipronil toxicity on wistar rats: A hepatotoxic perspective. *Toxicol Rep* 2018 ; 5 : 448-56.

Katuli KK, Amiri BM, Massarsky A, *et al*. Impact of a short-term diazinon exposure on the osmoregulation potentiality of Caspian roach (Rutilus rutilus) fingerlings. *Chemosphere* 2014 ; 108 : 396-404.

Kaul PP, Rastogi A, Hans RK, *et al*. Fenvalerate-induced alterations in circulatory thyroid hormones and calcium stores in rat brain. *Toxicol Lett* 1996 ; 89 : 29-33.

Khan DA, Ahad K, Ansari WM, *et al*. Pesticide exposure and endocrine dysfunction in the cotton crop agricultural workers of southern Punjab, Pakistan. *Asia Pac J Public Health* 2013 ; 25 : 181-91.

Kim S, Park J, Kim H-J, *et al*. Association between several persistent organic pollutants and thyroid hormone levels in cord blood serum and bloodspot of the newborn infants of Korea. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0125213.

Kim YA, Yoon YS, Kim HS, *et al*. Distribution of fipronil in humans, and adverse health outcomes of in utero fipronil sulfone exposure in newborns. *Int J Hyg Environ Health* 2019 ; 222 : 524-32.

Kitamura S, Kato T, Iida M, *et al*. Anti-thyroid hormonal activity of tetrabromobisphenol A, a flame retardant, and related compounds: Affinity to the mammalian

thyroid hormone receptor, and effect on tadpole metamorphosis. *Life Sci* 2005 ; 76 : 1589-601.

Koller KJ, Wolff RS, Warden MK, *et al.* Thyroid hormones regulate levels of thyrotropin-releasing-hormone mRNA in the paraventricular nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987 ; 84 : 7329-33.

Kongtip P, Nankongnab N, Kallayanatham N, *et al.* Thyroid hormones in conventional and organic farmers in Thailand. *Int J Environ Res Public Health* 2019 ; 16 : 2704.

Kretschmer XC, Baldwin WS. CAR and PXR: xenosensors of endocrine disrupters? *Chem Biol Interact* 2005 ; 155 : 111-28.

Krieger RI, Chen L, Ginevan M, *et al.* Implications of estimates of residential organophosphate exposure from dialkylphosphates (DAPs) and their relevance to risk. *Regul Toxicol Pharmacol* 2012 ; 64 : 263-6.

Lacasaña M, López-Flores I, Rodríguez-Barranco M, *et al.* Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010a ; 243 : 19-26.

Lacasaña M, López-Flores I, Rodríguez-Barranco M, *et al.* Interaction between organophosphate pesticide exposure and PON1 activity on thyroid function. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010b ; 249 : 16-24.

Langer P, Tajtakova M, Kocan A, *et al.* Multiple organochlorine pollution and the thyroid. *Endocr Regul* 2006 ; 40 : 46-52.

Lanni A, Moreno M, Lombardi A, *et al.* 3,5-diiodo-L-thyronine powerfully reduces adiposity in rats by increasing the burning of fats. *FASEB J* 2005 ; 19 : 1552-4.

Leghait J, Gayrard V, Toutain P-L, *et al.* Is the mechanisms of fipronil-induced thyroid disruption specific of the rat: Re-evaluation of fipronil thyroid toxicity in sheep? *Toxicol Lett* 2010 ; 194 : 51-7.

Leghait J, Gayrard V, Picard-Hagen N, *et al.* Fipronil-induced disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free thyroxine clearances concomitantly to increased activity of hepatic enzymes. *Toxicology* 2009 ; 255 : 38-44.

Leghait J. *Evaluation du potentiel perturbateur thyroïdien du fipronil chez deux espèces : le rat et le mouton*. Université Toulouse III - Paul Sabatier. Doctorat, 2008.

Lemaire G, Mnif W, Pascussi J-M, *et al.* Identification of new human pregnane X receptor ligands among pesticides using a stable reporter cell system. *Toxicological Sciences* 2006 ; 91 : 501-9.

Lerro CC, Jones RR, Langseth H, *et al.* A nested case-control study of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, and thyroid cancer in the Janus Serum Bank cohort. *Environ Res* 2018a ; 165 : 125-32.

Lerro CC, Beane Freeman LE, DellaValle CT, *et al.* Occupational pesticide exposure and subclinical hypothyroidism among male pesticide applicators. *Occup Environ Med* 2018b ; 75 : 79-89.

Lerro CC, Koutros S, Andreotti G, *et al.* Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Occup Environ Med* 2015 ; 72 : 736-44.

Leux C, Guenel P. Risk factors of thyroid tumors: role of environmental and occupational exposures to chemical pollutants. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2010 ; 58 : 359-67.

Levin ED, Addy N, Baruah A, *et al.* Prenatal chlorpyrifos exposure in rats causes persistent behavioral alterations. *Neurotoxicol Teratol* 2002 ; 24 : 733-41.

Lévy-Bimbot M, Major G, Courilleau D, *et al.* Tetrabromobisphenol-A disrupts thyroid hormone receptor alpha function in vitro: use of fluorescence polarization to assay corepressor and coactivator peptide binding. *Chemosphere* 2012 ; 87 : 782-8.

Lezoualc'h F, Hassan AH, Giraud P, *et al.* Assignment of the beta-thyroid hormone receptor to 3,5,3'-triiodothyronine-dependent inhibition of transcription from the thyrotropin-releasing hormone promoter in chick hypothalamic neurons. *Mol Endocrinol* 1992 ; 6 : 1797-804.

Li C, Cheng Y, Tang Q, *et al.* The association between prenatal exposure to organochlorine pesticides and thyroid hormone levels in newborns in Yancheng, China. *Environ Res* 2014 ; 129 : 47-51.

Lin C-L, Wu S-Y, Huang W-T, *et al.* Subsequent thyroid disorders associated with treatment strategy in head and neck cancer patients: a nationwide cohort study. *BMC Cancer* 2019 ; 19 : 461.

Lin H-Y, Cody V, Davis FB, *et al.* Identification and functions of the plasma membrane receptor for thyroid hormone analogues. *Discov Med* 2011 ; 11 : 337-47.

Little AG. Local regulation of thyroid hormone signaling. *Vitam Horm* 2018 ; 106 : 1-17.

Liu C, Ha M, Li L, *et al.* PCB153 and p,p'-DDE disorder thyroid hormones via thyroglobulin, deiodinase 2, transthyretin, hepatic enzymes and receptors. *Environ Sci Pollut Res Int* 2014 ; 21 : 11361-9.

Liu C, Shi Y, Li H, *et al.* p,p'-DDE disturbs the homeostasis of thyroid hormones via thyroid hormone receptors, transthyretin, and hepatic enzymes. *Horm Metab Res* 2011 ; 43 : 391-6.

Liu Y-Y, Brent GA. Thyroid hormone crosstalk with nuclear receptor signaling in metabolic regulation. *Trends Endocrinol Metab* 2010 ; 21 : 166-73.

Li W, Zha J, Li Z, *et al.* Effects of exposure to acetochlor on the expression of thyroid hormone related genes in larval and adult rare minnow (Gobiocypris rarus). *Aquat Toxicol* 2009 ; 94 : 87-93.

Lopez-Espinosa M-J, Vizcaino E, Murcia M, *et al.* Association between thyroid hormone levels and 4,4'-DDE concentrations in pregnant women (Valencia, Spain). *Environ Res* 2009 ; 109 : 479-85.

Lu M, Du J, Zhou P, *et al.* Endocrine disrupting potential of fipronil and its metabolite in reporter gene assays. *Chemosphere* 2015 ; 120 : 246-51.

Luo D, Pu Y, Tian H, *et al*. Association of in utero exposure to organochlorine pesticides with thyroid hormone levels in cord blood of newborns. *Environ Pollut* 2017 ; 231 : 78-86.

Maervoet J, Vermeir G, Covaci A, *et al*. Association of thyroid hormone concentrations with levels of organochlorine compounds in cord blood of neonates. *Environ Health Perspect* 2007 ; 115 : 1780-6.

Maiti PK, Kar A, Gupta P, *et al*. Loss of membrane integrity and inhibition of type-I iodothyronine 5'-monodeiodinase activity by fenvalerate in female mouse. *Biochem Biophys Res Commun* 1995 ; 214 : 905-9.

Manfo FPT, Moundipa PF, Dechaud H, *et al*. Effect of agropesticides use on male reproductive function: a study on farmers in Djutitsa (Cameroon). *Environ Toxicol* 2012 ; 27 : 423-32.

Maranghi F, De Angelis S, Tassinari R, *et al*. Reproductive toxicity and thyroid effects in Sprague Dawley rats exposed to low doses of ethylenethiourea. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 59 : 261-71.

Marinovich M, Guizzetti M, Ghilardi F, *et al*. Thyroid peroxidase as toxicity target for dithiocarbamates. *Arch Toxicol* 1997 ; 71 : 508-12.

McLean D, Eng A, Dryson E, *et al*. Morbidity in former sawmill workers exposed to pentachlorophenol (PCP): a cross-sectional study in New Zealand. *Am J Ind Med* 2009 ; 52 : 271-81.

Meeker JD, Barr DB, Hauser R. Pyrethroid insecticide metabolites are associated with serum hormone levels in adult men. *Reprod Toxicol* 2009 ; 27 : 155-60.

Meeker JD, Altshul L, Hauser R. Serum PCBs, p,p'-DDE and HCB predict thyroid hormone levels in men. *Environ Res* 2007 ; 104 : 296-304.

Meeker JD, Barr DB, Hauser R. Thyroid hormones in relation to urinary metabolites of non-persistent insecticides in men of reproductive age. *Reprod Toxicol* 2006 ; 22 : 437-42.

Mesnage R, Biserni M, Genkova D, *et al*. Evaluation of neonicotinoid insecticides for oestrogenic, thyroidogenic and adipogenic activity reveals imidacloprid causes lipid accumulation. *J Appl Toxicol* 2018 ; 38 : 1483-91.

Mesnage R, Defarge N, Spiroux de Vendômois J, *et al*. Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles. *Biomed Res Int* 2014 ; 2014 : 179691.

Mijiddorj T, Kanasaki H, Purwana IN, *et al*. Stimulatory effect of pituitary adenylate-cyclase activating polypeptide (PACAP) and its PACAP type I receptor (PAC1R) on prolactin synthesis in rat pituitary somatolactotroph GH3 cells. *Mol Cell Endocrinol* 2011 ; 339 : 172-9.

Miller MD, Crofton KM, Rice DC, *et al*. Thyroid-disrupting chemicals: interpreting upstream biomarkers of adverse outcomes. *Environ Health Perspect* 2009 ; 117 : 1033-41.

Miranda-Contreras L, Gomez-Perez R, Rojas G, *et al*. Occupational exposure to organophosphate and carbamate pesticides affects sperm chromatin integrity and

reproductive hormone levels among Venezuelan farm workers. *J Occup Health* 2013 ; 55 : 195-203.

Mortensen AS, Arukwe A. The persistent DDT metabolite, 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene, alters thyroid hormone-dependent genes, hepatic cytochrome P4503A, and pregnane X receptor gene expressions in Atlantic salmon (Salmo salar) Parr. *Environ Toxicol Chem* 2006 ; 25 : 1607-15.

Morvan-Dubois G, Fini JB, Demeneix BA. Is thyroid hormone signaling relevant for vertebrate embryogenesis? *Curr Top Dev Biol* 2013 ; 103 : 365-96.

Morvan-Dubois G, Demeneix BA, Sachs LM. Xenopus laevis as a model for studying thyroid hormone signalling: from development to metamorphosis. *Mol Cell Endocrinol* 2008 ; 293 : 71-9.

Mughal BB, Fini J-B, Demeneix BA. Thyroid-disrupting chemicals and brain development: an update. *Endocr Connect* 2018 ; 7 : R160-R186.

Mulder TA, van den Dries, Michiel A, Korevaar TIM, *et al*. Organophosphate pesticides exposure in pregnant women and maternal and cord blood thyroid hormone concentrations. *Environ Int* 2019 ; 132 : 105124.

Murk AJ, Rijntjes E, Blaauboer BJ, *et al*. Mechanism-based testing strategy using in vitro approaches for identification of thyroid hormone disrupting chemicals. *Toxicol In Vitro* 2013 ; 27 : 1320-46.

Nagayama J, Kohno H, Kunisue T, *et al*. Concentrations of organochlorine pollutants in mothers who gave birth to neonates with congenital hypothyroidism. *Chemosphere* 2007 ; 68 : 972-6.

Nasterlack M, Hoffmann G, Messerer P, *et al*. Epidemiological and clinical investigations among employees in a former herbicide production process. *Int Arch Occup Environ Health* 2007 ; 80 : 234-8. •

Neumann S, Huang W, Eliseeva E, *et al*. A small molecule inverse agonist for the human thyroid-stimulating hormone receptor. *Endocrinology* 2010 ; 151 : 3454-9.

Nordby K-C, Andersen A, Irgens LM, *et al*. Indicators of mancozeb exposure in relation to thyroid cancer and neural tube defects in farmers' families. *Scand J Work Environ Health* 2005 ; 31 : 89-96.

OECD. *Revised guidance document 150 on standardised test guidelines for evaluating chemicals for endocrine disruption*. OECD Series on testing and assessment. Paris : OECD, 2018.

OECD. *New scoping document on in vitro and ex vivo assays for the identification of modulators of thyroid hormone signalling*. OECD Series on testing and assessment. Paris : OECD, 2017.

OECD. *Guidance document on standardised test guidelines for evaluating chemicals for endocrine disruption*. OECD Series on testing and assessment. Paris : OECD publishing, 2014 : 524 p.

Ohba K, Sasaki S, Matsushita A, *et al*. GATA2 mediates thyrotropin-releasing hormone-induced transcriptional activation of the thyrotropin β gene. *PLoS One* 2011 ; 6 : e18667.

Ortiz-Delgado JB, Funes V, Sarasquete C. The organophosphate pesticide -OP- malathion inducing thyroidal disruptions and failures in the metamorphosis of the Senegalese sole, Solea senegalensis. *BMC Vet Res* 2019 ; 15 : 57.

Pandey SP, Mohanty B. The neonicotinoid pesticide imidacloprid and the dithiocarbamate fungicide mancozeb disrupt the pituitary-thyroid axis of a wildlife bird. *Chemosphere* 2015 ; 122 : 227-34.

Panganiban L, Cortes-Maramba N, Dioquino C, *et al*. Correlation between blood ethylenethiourea and thyroid gland disorders among banana plantation workers in the Philippines. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 42-5.

Paris M, Laudet V. The history of a developmental stage: metamorphosis in chordates. *Genesis* 2008 ; 46 : 657-72.

Paul KB, Hedge JM, Rotroff DM, *et al*. Development of a thyroperoxidase inhibition assay for high-throughput screening. *Chem Res Toxicol* 2014 ; 27 : 387-99.

Paul KB, Hedge JM, Macherla C, *et al*. Cross-species analysis of thyroperoxidase inhibition by xenobiotics demonstrates conservation of response between pig and rat. *Toxicology* 2013 ; 312 : 97-107.

Pelletier C, Doucet E, Imbeault P, *et al*. Associations between weight loss-induced changes in plasma organochlorine concentrations, serum T(3) concentration, and resting metabolic rate. *Toxicol Sci* 2002 ; 67 : 46-51.

Piccoli C, Cremonese C, Koifman RJ, *et al*. Pesticide exposure and thyroid function in an agricultural population in Brazil. *Environ Res* 2016 ; 151 : 389-98.

Picou F, Fauquier T, Chatonnet F, *et al*. A bimodal influence of thyroid hormone on cerebellum oligodendrocyte differentiation. *Mol Endocrinol* 2012 ; 26 : 608-18.

Porreca I, D'Angelo F, Franceschi L de, *et al*. Pesticide toxicogenomics across scales: in vitro transcriptome predicts mechanisms and outcomes of exposure in vivo. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 38131.

Préau L, Fini JB, Morvan-Dubois G, *et al*. Thyroid hormone signaling during early neurogenesis and its significance as a vulnerable window for endocrine disruption. *Biochim Biophys Acta* 2015 ; 1849 : 112-21.

Rathore M, Bhatnagar P, Mathur D, *et al*. Burden of organochlorine pesticides in blood and its effect on thyroid hormones in women. *Sci Total Environ* 2002 ; 295 : 207-15.

Renko K, Hoefig CS, Hiller F, *et al*. Identification of iopanoic acid as substrate of type 1 deiodinase by a novel nonradioactive iodide-release assay. *Endocrinology* 2012 ; 153 : 2506-13.

Requena M, López A, Hernández AF, *et al*. Environmental exposure to pesticides and risk of thyroid diseases. *Toxicol Lett* 2019 ; 315 : 55-63.

RIVM, ICPS, ANSES. Toxicological data collection and analysis to support grouping of pesticide active substances for cumulative risk assessment of effects on the nervous system, liver, adrenal, eye, reproduction and development and thyroid system (GP/EFSA/PRAS/2013/02). *EFS3* 2016 ; 13 : 999E.

Roques BB, Leghait J, Lacroix MZ, *et al.* The nuclear receptors pregnane X receptor and constitutive androstane receptor contribute to the impact of fipronil on hepatic gene expression linked to thyroid hormone metabolism. *Biochem Pharmacol* 2013 ; 86 : 997-1039.

Rossi M, Taddei AR, Fasciani I, *et al.* The cell biology of the thyroid-disrupting mechanism of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). *J Endocrinol Invest* 2018 ; 41 : 67-73.

Rouquié D, Tinwell H, Blanck O, *et al.* Thyroid tumor formation in the male mouse induced by fluopyram is mediated by activation of hepatic CAR/PXR nuclear receptors. *Regul Toxicol Pharmacol* 2014 ; 70 : 673-80. •

Rylander L, Wallin E, Jonssson BAG, *et al.* Associations between CB-153 and p,p'-DDE and hormone levels in serum in middle-aged and elderly men. *Chemosphere* 2006 ; 65 : 375-81.

Saghir SA, Charles GD, Bartels MJ, *et al.* Mechanism of trifluralin-induced thyroid tumors in rats. *Toxicol Lett* 2008 ; 180 : 38-45. •

Saillenfait AM, Gallissot F, Langonné I, *et al.* Developmental toxicity of N-methyl-2-pyrrolidone administered orally to rats. *Food Chem Toxicol* 2002 ; 40 : 1705-12.

Sala M, Sunyer J, Herrero C, *et al.* Association between serum concentrations of hexachlorobenzene and polychlorobiphenyls with thyroid hormone and liver enzymes in a sample of the general population. *Occup Environ Med* 2001 ; 58 : 172-7.

Santini F, Vitti P, Ceccarini G, *et al.* In vitro assay of thyroid disruptors affecting TSH-stimulated adenylate cyclase activity. *J Endocrinol Invest* 2003 ; 26 : 950-5.

Schell LM, Gallo MV, Ravenscroft J, *et al.* Persistent organic pollutants and anti-thyroid peroxidase levels in Akwesasne Mohawk young adults. *Environ Res* 2009 ; 109 : 86-92.

Schell LM, Gallo MV, Denham M, *et al.* Relationship of thyroid hormone levels to levels of polychlorinated biphenyls, lead, p,p'- DDE, and other toxicants in Akwesasne Mohawk youth. *Environ Health Perspect* 2008 ; 116 : 806-13.

Schmutzler C, Gotthardt I, Hofmann PJ, *et al.* Endocrine disruptors and the thyroid gland-a combined in vitro and in vivo analysis of potential new biomarkers. *Environ Health Perspect* 2007 ; 115 Suppl 1 : 77-83.

Schreinemachers DM. Perturbation of lipids and glucose metabolism associated with previous 2,4-D exposure: a cross-sectional study of NHANES III data, 1988-1994. *Environ Health* 2010 ; 9 : 11.

Shrestha S, Parks CG, Goldner WS, *et al.* Pesticide use and incident hyperthyroidism in farmers in the Agricultural Health Study. *Occup Environ Med* 2019 ; 76 : 332-5.

Shrestha S, Parks CG, Goldner WS, *et al.* Incident thyroid disease in female spouses of private pesticide applicators. *Environ Int* 2018a ; 118 : 282-92.

Shrestha S, Parks CG, Goldner WS, *et al.* Pesticide use and incident hypothyroidism in pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2018b ; 126 : 97008.

Silva JF, Ocarino NM, Serakides R. In vitro effects of triiodothyronine on gene expression in mouse trophoblast cells. *Placenta* 2015a ; 36 : 97-9.

Silva JF, Ocarino NM, Serakides R. Placental angiogenic and hormonal factors are affected by thyroid hormones in rats. *Pathol Res Pract* 2015b ; 211 : 226-34.

Simescu M, Podia Igna C, Nicolaescu E, *et al.* Multiple pesticides exposure of greenhouse workers and thyroid parameters. *Int J SDP* 2014 ; 9 : 15-28.

Sirakov M, Plateroti M. The thyroid hormones and their nuclear receptors in the gut: from developmental biology to cancer. *Biochim Biophys Acta* 2011 ; 1812 : 938-46.

Smith DM. Ethylene thiourea: thyroid function in two groups of exposed workers. *Br J Ind Med* 1984 ; 41 : 362-6.

Spirhanzlova P, Leemans M, Demeneix BA, *et al.* Following endocrine-disrupting effects on gene expression in Xenopus laevis. *Cold Spring Harb Protoc* 2019 ; 2019 : pdb.prot098301.

Srivastava AK, Gupta BN, Bihari V, *et al.* Organochlorine pesticide exposure and thyroid function: a study in human subjects. *J Environ Pathol Toxicol* 1995 ; 14 : 107-10.

Steenland K, Cedillo L, Tucker J, *et al.* Thyroid hormones and cytogenetic outcomes in backpack sprayers using ethylenebis(dithiocarbamate) (EBDC) fungicides in Mexico. *Environ Health Perspect* 1997 ; 105 : 1126-30.

Stenzel D, Wilsch-Bräuninger M, Wong FK, *et al.* Integrin αvβ3 and thyroid hormones promote expansion of progenitors in embryonic neocortex. *Development* 2014 ; 141 : 795-806.

Sugiyama S-I, Miyoshi H, Yamauchi K. Characteristics of a thyroid hormone responsive reporter gene transduced into a Xenopus laevis cell line using lentivirus vector. *Gen Comp Endocrinol* 2005 ; 144 : 270-9.

Suhartono S, Kartini A, Subagio HW, *et al.* Pesticide exposure and thyroid function in elementary school children living in an agricultural area, Brebes District, Indonesia. *Int J Occup Environ Med* 2018 ; 9 : 137-44.

Sun H, Shen O-X, Xu X-L, *et al.* Carbaryl, 1-naphthol and 2-naphthol inhibit the beta-1 thyroid hormone receptor-mediated transcription in vitro. *Toxicology* 2008 ; 249 : 238-42.

Szkudlinski MW, Fremont V, Ronin C, *et al.* Thyroid-stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone receptor structure-function relationships. *Physiol Rev* 2002 ; 82 : 473-502.

't Mannetje A, Eng A, Walls C, *et al.* Morbidity in New Zealand pesticide producers exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Environ Int* 2018 ; 110 : 22-31.

Takser L, Mergler D, Baldwin M, *et al.* Thyroid hormones in pregnancy in relation to environmental exposure to organochlorine compounds and mercury. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 1039-45.

Tata JR. The road to nuclear receptors of thyroid hormone. *Biochim Biophys Acta* 2013 ; 1830 : 3860-6.

Taylor E, Heyland A. Evolution of thyroid hormone signaling in animals: Non-genomic and genomic modes of action. *Mol Cell Endocrinol* 2017 ; 459 : 14-20.

Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, *et al*. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol* 2018 ; 14 : 301-16.

Teeyapant P, Ramchiun S, Polputpisatkul D, *et al*. Serum concentrations of organochlorine pesticides p,p'-DDE in adult Thai residents with background levels of exposure. *J Toxicol Sci* 2014 ; 39 : 121-7.

Thomas RS, Paules RS, Simeonov A, *et al*. The US Federal Tox21 Program: A strategic and operational plan for continued leadership. *ALTEX* 2018 ; 35 : 163-8.

Toft G, Flyvbjerg A, Bonde JP. Thyroid function in Danish greenhouse workers. *Environ Health* 2006 ; 5 : 32.

Turyk ME, Anderson HA, Persky VW. Relationships of thyroid hormones with polychlorinated biphenyls, dioxins, furans, and DDE in adults. *Environ Health Perspect* 2007 ; 115 : 1197-203.

Turyk ME, Anderson HA, Freels S, *et al*. Associations of organochlorines with endogenous hormones in male Great Lakes fish consumers and nonconsumers. *Environ Res* 2006 ; 102 : 299-307.

Tu W, Xu C, Lu B, *et al*. Acute exposure to synthetic pyrethroids causes bioconcentration and disruption of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in zebrafish embryos. *Sci Total Environ* 2016a ; 542 : 876-85.

Tu W, Xu C, Jin Y, *et al*. Permethrin is a potential thyroid-disrupting chemical: In vivo and in silico envidence. *Aquat Toxicol* 2016b ; 175 : 39-46.

van den Dries MA, Pronk A, Guxens M, *et al*. Determinants of organophosphate pesticide exposure in pregnant women: A population-based cohort study in the Netherlands. *Int J Hyg Environ Health* 2018 ; 221 : 489-501.

van Raaij JA, Frijters CM, van den Berg KJ. Hexachlorobenzene-induced hypothyroidism. Involvement of different mechanisms by parent compound and metabolite. *Biochem Pharmacol* 1993 ; 46 : 1385-91.

Vanderpump MPJ. The epidemiology of thyroid disease. *Br Med Bull* 2011 ; 99 : 39-51.

Vella KR, Hollenberg AN. The actions of thyroid hormone signaling in the nucleus. *Mol Cell Endocrinol* 2017 ; 458 : 127-35.

Visser TJ. Pathways of thyroid hormone metabolism. *Acta Med Austriaca* 1996 ; 23 : 10-6.

Visser TJ. Role of sulfation in thyroid hormone metabolism. *Chem Biol Interact* 1994 ; 92 : 293-303.

Visser WE, Friesema ECH, Visser TJ. Minireview: thyroid hormone transporters: the knowns and the unknowns. *Mol Endocrinol* 2011 ; 25 : 1-14.

Wang B, Liu J-J, Wang Y, *et al*. Maternal fenvalerate exposure induces fetal intrauterine growth restriction through disrupting placental thyroid hormone receptor signaling. *Toxicol Sci* 2017a ; 157 : 377-86.

Wang L-Q, James MO. Inhibition of sulfotransferases by xenobiotics. *Curr Drug Metab* 2006 ; 7 : 83-104.

Wang Q, Liang K, Liu J, *et al*. Exposure of zebrafish embryos/larvae to TDCPP alters concentrations of thyroid hormones and transcriptions of genes involved in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. *Aquat Toxicol* 2013 ; 126 : 207-13.

Wang Y, Chen L, Wang C, *et al*. Association between organophosphate pesticide exposure and thyroid hormones in pregnant women. *Epidemiology* 2017b ; 28 Suppl 1 : S35-S40.

Wang Y, Lewis-Michl EL, Hwang S-A, *et al*. Cancer incidence among a cohort of female farm residents in New York State. *Arch Environ Health* 2002 ; 57 : 561-7.

Weiss JM, Andersson PL, Lamoree MH, *et al*. Competitive binding of poly- and perfluorinated compounds to the thyroid hormone transport protein transthyretin. *Toxicol Sci* 2009 ; 109 : 206-16.

Wohlfahrt-Veje C, Main KM, Schmidt IM, *et al*. Lower birth weight and increased body fat at school age in children prenatally exposed to modern pesticides: a prospective study. *Environ Health* 2011 ; 10 : 79.

Wu S-Y, Green WL, Huang W-S, *et al*. Alternate pathways of thyroid hormone metabolism. *Thyroid* 2005 ; 15 : 943-58.

Xiang D, Han J, Yao T, *et al*. Editor's highlight: structure-based investigation on the binding and activation of typical pesticides with thyroid receptor. *Toxicol Sci* 2017 ; 160 : 205-16.

Xiong J, Tian L, Qiu Y, *et al*. Evaluation on the thyroid disrupting mechanism of malathion in Fischer rat thyroid follicular cell line FRTL-5. *Drug Chem Toxicol* 2018 ; 41 : 501-8.

Yaglova NV, Yaglov VV. Cytophysiological changes in the follicular epithelium of the thyroid gland after long-term exposure to low doses of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). *Bull Exp Biol Med* 2017 ; 162 : 699-702.

Yaglova NV, Yaglov VV. Changes in thyroid status of rats after prolonged exposure to low dose dichlorodiphenyltrichloroethane. *Bull Exp Biol Med* 2014 ; 156 : 760-2.

Yu C, Wang C, Lu Z, *et al*. The endocrine-disrupting potential of four chlorophenols by in vitro and in silico assay. *Chemosphere* 2019 ; 218 : 941-7.

Yu L-Q, Zhao G-F, Feng M, *et al*. Chronic exposure to pentachlorophenol alters thyroid hormones and thyroid hormone pathway mRNAs in zebrafish. *Environ Toxicol Chem* 2014 ; 33 : 170-6.

Zaidi SS, Bhatnagar VK, Gandhi SJ, *et al*. Assessment of thyroid function in pesticide formulators. *Hum Exp Toxicol* 2000 ; 19 : 497-501.

Zeng F, Lerro C, Lavoue J, *et al*. Occupational exposure to pesticides and other biocides and risk of thyroid cancer. *Occup Environ Med* 2017 ; 74 : 502-10.

Zhang J, Yoshinaga J, Hisada A, *et al.* Prenatal pyrethroid insecticide exposure and thyroid hormone levels and birth sizes of neonates. *Sci Total Environ* 2014a ; 488-489 : 275-9.

Zhang J, Hisada A, Yoshinaga J, *et al.* Exposure to pyrethroids insecticides and serum levels of thyroid-related measures in pregnant women. *Environ Res* 2013a ; 127 : 16-21.

Zhang Q, Zhang Y, Du J, *et al.* Environmentally relevant levels of λ-cyhalothrin, fenvalerate, and permethrin cause developmental toxicity and disrupt endocrine system in zebrafish (Danio rerio) embryo. *Chemosphere* 2017 ; 185 : 1173-80.

Zhang Q, Ji C, Yan L, *et al.* The identification of the metabolites of chlorothalonil in zebrafish (Danio rerio) and their embryo toxicity and endocrine effects at environmentally relevant levels. *Environ Pollut* 2016 ; 218 : 8-15.

Zhang X, Liu W, Wang J, *et al.* Quantitative analysis of in-vivo responses of reproductive and thyroid endpoints in male goldfish exposed to monocrotophos pesticide. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2018 ; 211 : 41-7.

Zhang X, Tian H, Wang W, *et al.* Monocrotophos pesticide decreases the plasma levels of total 3,3',5-triiodo-l-thyronine and alters the expression of genes associated with the thyroidal axis in female goldfish (Carassius auratus). *PLoS One* 2014b ; 9 : e108972.

Zhang X, Tian H, Wang W, *et al.* Exposure to monocrotophos pesticide causes disruption of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in adult male goldfish (Carassius auratus). *Gen Comp Endocrinol* 2013b ; 193 : 158-66.

18
Endométriose

L'endométriose est une maladie inflammatoire chronique qui se caractérise par la présence anormale (ectopique) de cellules endométriales en dehors de la cavité utérine (Zondervan et coll., 2020). La paroi interne de l'utérus est recouverte d'un tissu muqueux (l'endomètre) composé d'un épithélium superficiel, reposant sur un stroma composé de tissu conjonctif, contenant de nombreuses glandes. Cette muqueuse dont les propriétés évoluent au cours du cycle menstruel (épaississement et vascularisation dans la première phase, accueil éventuel de l'embryon au cours de la deuxième phase), se desquame en l'absence de fécondation, produisant les règles ou menstruations.

Cette définition est cependant trop simple par rapport à la complexité et l'hétérogénéité de cette pathologie, notamment au regard de la symptomatologie, des mécanismes et de la nature multisystémique (Zondervan et coll., 2020). Les foyers d'endométriose peuvent être présents dans divers organes et compartiments anatomiques. On distingue ainsi principalement des localisations ovariennes (endométriome ovarien), péritonéales superficielles et sous-péritonéales, ces dernières pouvant être rétro-péritonéales ou profondes en infiltrant les viscères abdominaux ou pelviens. Il existe également des localisations exceptionnelles telles que les poumons, le cerveau ou les glandes lacrymales.

Sa principale manifestation clinique est la douleur gynécologique exprimée par des règles douloureuses (dysménorrhée), mais aussi par des douleurs pendant les rapports sexuels (dyspareunie), la miction ou la défécation ainsi que des douleurs pelviennes et abdominales. La douleur peut être continue ou bien cyclique en lien avec les règles ou l'ovulation. L'origine de ces douleurs est à rattacher à la réaction inflammatoire aux foyers ectopiques d'endométriose qui fréquemment saignent pendant les règles. Outre la douleur, l'endométriose peut entraîner chez certaines femmes une infertilité (Zondervan et coll., 2018).

Le diagnostic est suspecté de par la clinique, notamment par la localisation et la cyclicité des douleurs, mais peut être également évoqué pour des formes asymptomatiques lors des bilans d'infertilité. Un examen radiologique,

notamment par échographie ou par IRM, permet de confirmer une endométriose, même si le diagnostic définitif doit passer par l'analyse du tissu endométrial.

On estime que l'endométriose concernerait 5 à 10 % des femmes en âge de procréer (Ozkan et coll., 2008). Les données du PMSI (programme de médicalisation du système d'information), ont été utilisées en France pour estimer la prévalence d'hospitalisation pour endométriose. Sur environ 14 millions de femmes en âge de procréer entre 2008 et 2012, environ 125 000 (0,9 %) ont été hospitalisées au moins une fois pour cette pathologie (von Theobald et coll., 2016). Ce pourcentage variait de 0,4 % à 1,6 % selon les régions et avait tendance à augmenter dans le temps. La prévalence d'hospitalisation sous-estime la prévalence de la maladie en population générale dans la mesure où de nombreuses formes ne sont pas ou sont peu symptomatiques et n'entraînent pas d'hospitalisation. Selon cette même étude, 10 à 50 % des formes auraient une localisation ovarienne, péritonéale superficielle (20 à 30 %), digestive (10 à 20 %) et moins de 10 % urétrale et vésicale.

Facteurs de risque

Divers résultats suggèrent que des facteurs génétiques, nutritionnels, hormonaux, et environnementaux (notamment l'exposition à des perturbateurs endocriniens) pourraient intervenir dans le développement de l'endométriose. Parmi les facteurs de risque les plus souvent associés, on trouve un âge des premières règles précoce, un cycle menstruel plus court, un faible poids de naissance, un indice de masse corporelle (IMC) plus faible au cours de la vie ou le fait d'avoir moins d'enfants (Shafrir et coll., 2018). Des associations avec l'activité physique, l'alimentation et le fait d'allaiter son enfant semblent exister mais auraient néanmoins besoin d'être confirmées. L'exposition intra-utérine au diéthylstilbestrol a également été associée avec une augmentation de risque ultérieur, et le tabagisme plutôt à une diminution de risque, qui pourrait s'expliquer par une diminution des niveaux d'œstrogènes circulants chez les mères exposées.

Le risque de développer une endométriose sévère serait généralement au moins multiplié par 5 en cas d'antécédent familial au 1er degré (Moen et Magnus, 1993 ; Vassilopoulou et coll., 2019), ce qui suggère une composante génétique à la maladie. Les études de jumeaux estiment l'hérédité de l'endométriose à 50 % (Zondervan et coll., 2020). Plusieurs études d'association pangénomique ont été réalisées sur des cohortes de femmes atteintes ou non d'endométriose. Parmi celles-ci, une étude japonaise (Uno et coll., 2010)

impliquant 1 907 patientes et 5 292 témoins et une étude internationale (Painter et coll., 2010) incluant 3 194 patientes et 7 060 témoins ont conduit à l'identification de polymorphismes génétiques significativement associés à la maladie. Les impacts fonctionnels de ces polymorphismes, qui sont localisés dans des régions codantes et non codantes du génome et qui touchent une vingtaine de gènes, restent à déterminer. Cependant, ces variations n'augmentent que faiblement le risque relatif de développer une endométriose : elles expliquent ensemble à peine 5 % de l'héritabilité génétique de la maladie (Sapkota et coll., 2017). Des études ont mis en évidence des associations entre des polymorphismes de gènes codant des enzymes participant au métabolisme des xénobiotiques (cytochromes, glutathion-S-transférases et N-acétyl-transférases) et le risque de survenue de l'endométriose, ce qui évoque un effet gène-environnement (Vassilopoulou et coll., 2019). Cependant, à notre connaissance, il n'existe pas à ce jour des données sur les interactions gènes-environnement dans le cadre de l'endométriose et l'exposition aux pesticides.

La nutrition semble aussi influencer la survenue de la maladie. La consommation de viande rouge, d'acides gras trans, et/ou d'alcool est associée à un risque augmenté d'endométriose à l'inverse de la consommation de fruits, légumes et aliments riches en oméga 3 dans certaines études (Giudice, 2010 ; Trabert et coll., 2011).

De nombreuses études épidémiologiques indiquent une association entre l'exposition aux dioxines ou aux polychlorobiphényles (PCB) et une augmentation de risque de l'endométriose (Mayani et coll., 1997 ; Buck Louis et coll., 2005 ; Heilier et coll., 2005 ; Porpora et coll., 2006 ; Simsa et coll., 2010 ; Cai et coll., 2011). Plus récemment, des associations ont été mises en évidence pour des retardateurs de flamme (Hoffman et coll., 2007 ; Buck Louis et coll., 2012). Ces xénobiotiques ayant des propriétés de perturbateurs endocriniens sont des ligands du récepteur aryl-hydrocarbone (AhR), notion à rapprocher de l'implication potentielle de ce récepteur dans le fonctionnement normal de l'endomètre en modulant la prolifération cellulaire en réponse aux hormones stéroïdiennes (Hernandez-Ochoa et coll., 2009). Enfin, une dizaine d'études épidémiologiques, analysées ici, ont exploré l'association entre l'exposition aux pesticides, notamment ceux appartenant à la famille des organochlorés, et le risque de l'endométriose.

Mécanismes physiopathologiques

L'endométriose est une maladie hétérogène dont l'étiologie est largement inconnue et dont la physiopathologie est mal comprise avec des mécanismes sous-tendus complexes qui dépendent de la localisation des lésions (péritoine, ovaire, profonde). L'hypothèse physiopathologique la plus communément admise pour les formes localisées dans la cavité abdominale est étroitement associée au processus de menstruation pouvant entraîner la migration par reflux de tissu endométrial en dehors de la cavité utérine. Sur le plan moléculaire, l'inflammation et la biosynthèse des hormones stéroïdiennes sont les deux mécanismes principaux favorisant l'implantation et la croissance des lésions (Haute Autorité de Santé, 2017).

Le premier mécanisme est un reflux rétrograde des cellules endométriales (détachées au moment des règles) vers le péritoine. Il ne peut être considéré comme le seul mécanisme car des cellules endométriales peuvent aussi être retrouvées dans des organes ou tissus situés en dehors du péritoine (poumon, péricarde, cerveau...). Toutefois, il est le principal mécanisme retenu pour l'endométriose péritonéale : la dissémination des cellules peut donc rappeler celle des cellules métastatiques impliquant à la fois une survie des cellules dans les milieux circulants et des « conditions propices d'accueil » dans le tissu hôte (Varma et coll., 2004 ; Dawson et coll., 2018). L'implantation qui survient est alors suivie d'une prolifération à condition de recevoir des nutriments en quantité suffisante. Une angiogenèse et une lymphangiogenèse sont donc fréquemment observées suite à l'étape d'implantation (Nisolle et coll., 2007). Les endométrioses ovariennes semblent prendre leur origine d'implants superficiels du péritoine qui adhèrent au cortex ovarien entraînant un refoulement du parenchyme et la formation de pseudo-kystes (endométriomes), avec en leur sein du tissu endométrial qui saigne au moment des règles entretenant ainsi une inflammation (Brosens et coll., 2003). Pour la formation des lésions profondes (endométriose profonde), les mécanismes sont controversés avec deux propositions principales : *i*) une infiltration d'une lésion superficielle (Koninckx et Martin, 1992) ou *ii*) le développement d'infiltrats endométriaux au cours du développement embryonnaire (Donnez et coll., 2002).

Les trois sous-types d'endométriose impliquent plusieurs mécanismes cellulaires communs : la migration et le détachement du tissu endométrial, l'adhésion puis la prolifération de celui-ci et enfin, le maintien de l'implant (détaillés ci-dessous).

La migration des cellules pourrait être due à des perturbations du phénotype des cellules endométriales comme une diminution de l'expression de

l'E-cadhérine associée à une transition épithélio-mésenchymateuse (Wu et coll., 2007 ; Ballester et coll., 2012b) ou à une augmentation de la production locale d'œstradiol par l'aromatase, enzyme clé de la biosynthèse des œstrogènes (également associée ensuite à la prolifération, voir ci-dessous) et de prostaglandines (PG). Ces cellules seront ensuite désignées par l'adjectif « ectopique ».

L'adhésion des cellules endométriales au niveau des tissus hôtes semble dépendre de la présence de PG et être liée à une induction d'expression de la cyclooxygénase-2 (COX2), enzyme limitante dans la conversion de l'acide arachidonique en PG (Chishima et coll., 2002) (voir ci-dessous). D'autres facteurs ont été impliqués, par exemple des cytokines et des chimiokines inflammatoires comme les interleukines-1β et 6, le TNF-α (*Tumor Necrosis Factor*, via la prolifération et l'adhésion des cellules péritonéales) et le TGF-β (*Transforming Growth Factor* β). La régulation des métalloprotéinases de la matrice (MMP) et la stimulation de l'angiogenèse sont aussi impliquées (Herington et coll., 2011). Dans l'endométriose péritonéale, les cellules mésenchymateuses stromales semblent jouer un rôle essentiel au cours de cette phase d'adhésion.

La prolifération des cellules endométriales dépend fortement des concentrations d'œstrogènes environnants (de la circulation ou du tissu local). Les œstrogènes circulants sont produits principalement par les ovaires ; au niveau local, cette production dépend fortement de l'activité de l'enzyme aromatase qui convertit les androgènes en œstrogènes (figure 18.1).

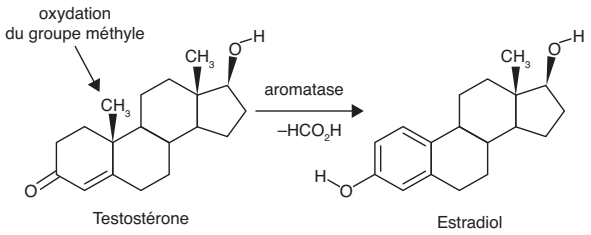


Figure 18.1 : Réaction catalysée par l'aromatase

Dans l'endomètre de femmes non atteintes d'endométriose, l'aromatase est normalement absente (Noble et coll., 1996). De plus, les cellules endométriales expriment des 17β-hydroxystéroïde déshydrogénases qui convertissent l'œstradiol en œstrone et donc entraîne la diminution des concentrations de 17β-œstradiol (E2), qui est l'œstrogène le plus puissant. La faible concentration de l'E2 dans le tissu endométrial normal entraîne une faible stimulation du récepteur nucléaire ERβ (*Estrogen Receptor*-β), qui, à son tour,

régule l'expression de la COX2 à l'origine de la production de la prostaglandine PGE2, et par conséquent, la concentration de ce médiateur pro-inflammatoire est faible. En cas d'endométriose, une augmentation de l'activité de l'aromatase est observée et donc, par ricochet, l'activité de COX2 avec une production accrue de PGE2. Cette production serait de nature à provoquer des douleurs chroniques et des dysménorrhées (Lai et coll., 2019). Alors que la participation de la progestérone et de l'hormone folliculo-stimulante dans la prolifération des cellules endométriales reste discutée (Patel et coll., 2017 ; Zondervan et coll., 2018), les MMP semblent être impliquées dans ce processus. L'expression ou l'activité de MMP2 et MMP9 est associée à la sévérité de l'endométriose (Salata et coll., 2008), MMP9 jouant un rôle à la fois dans l'initiation et le développement de la pathologie ; l'inhibition de COX2 diminue la migration et l'invasion des cellules épithéliales et stromales *in vitro* par la suppression de l'activité de MMP2 et MMP9 en lien avec une diminution de PGE2 (Banu et coll., 2008).

Le maintien et l'homéostasie du tissu endométrial ectopique est conditionné par le tissu environnant. Dans l'endométriose profonde, le site d'implantation semble conditionner le profil d'expression des récepteurs hormonaux des œstrogènes (*Estrogen Receptor* ; ER), des androgènes (*Androgen Receptor* ; AR) et des progestatifs (*Progesterone Receptor* ; PR) et donc la réponse potentielle aux traitements (Brandenberger et coll., 1999 ; Attia et coll., 2000 ; Xue et coll., 2007a). Ainsi, la profondeur de l'implantation semble inversement corrélée à l'expression des ER et PR (Donnez et coll., 1997) et le potentiel de croissance des lésions pourrait être lié au ratio ERα/ERβ, diminué dans les endométriomes comparativement au tissu normal (Brandenberger et coll., 1999). Par ailleurs, ce maintien pourrait être associé à un déficit ou une dysfonction immunitaire de plusieurs types cellulaires : les « *Natural Killer* » (NK), certains lymphocytes T et les macrophages infiltrants (Ploteau, 2016 ; Riccio, Luiza da Gama Coelho et coll., 2018 ; Symons et coll., 2018). Ce dysfonctionnement empêche la reconnaissance des cellules endométriales ectopiques ; celles-ci ne sont pas éliminées ce qui à terme favoriserait leur implantation et les manifestations pathologiques. Au cours de ce processus, les macrophages jouent un rôle particulier ; ainsi, en présence des cellules endométriales ectopiques, ils produisent de grandes quantités d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) déclenchant un stress oxydant non seulement au niveau des implants mais aussi du tissu local. Cette activation locale des macrophages pourrait être due à l'action initiale d'une chimiokine, MCP-1 (*Monocyte Chemotactic Protein*-1), produite par le tissu endométrial ectopique qui conduit à un recrutement de monocytes circulants au sein de la lésion et à leur différenciation en macrophages (Ulukus et coll., 2009). L'inflammation et le stress oxydant induits par les macrophages

peuvent, en plus des phénomènes décrits ci-dessus, contribuer par la production de nombreuses cytokines et interleukines aux dysfonctionnements des autres cellules mentionnées plus haut (cellules NK) ou à la production de *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) contribuant à l'angiogenèse participant à l'homéostasie des lésions (Asghari et coll., 2018). Ainsi, les niveaux de VEGF sont augmentés dans le fluide péritonéal de patientes atteintes d'endométriose par rapport aux femmes non atteintes (Pupo-Nogueira et coll., 2007). Par ailleurs, une étude récente combinant intelligence artificielle (traitement du langage naturel de la base PubMed) et analyse bio-informatique a permis de proposer 6 gènes particuliers associés du point de vue de leur variation d'expression et/ou d'activité avec une endométriose (sous réserve de validation expérimentale définitive) : *CDKN2B* (*Cyclin-dependent kinase inhibitor* 2B), *MAPK1* (*Mitogen-activated protein kinase* 1), *WNT4* (*Wnt family member* 4), *ILA* (*Interleukin 1 alpha*), *AKT1* (*Serine/threonine kinase 1*), et *KRAS* (*V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*). L'ensemble de ces gènes participe plus ou moins directement à des processus cellulaires tels que la prolifération ou l'inflammation (Bouaziz et coll., 2018).

En cas de chronicité de ces phénomènes, une perturbation des organes infiltrés peut être observée. S'agissant des ovaires, les conséquences peuvent être sévères : défauts de maturation des follicules ovariens, de la stéroïdogenèse ovarienne, de l'ovulation, puis de l'implantation du blastocyste. Cela expliquerait les infertilités parfois observées en cas d'endométriose. Bien que présentées successivement, les différentes phases dans l'apparition d'une endométriose (figure 18.2) ne sont pas indépendantes : ainsi au cours de l'endométriose les cellules stromales participent à l'adhésion tandis que les cellules épithéliales permettent la prolifération.

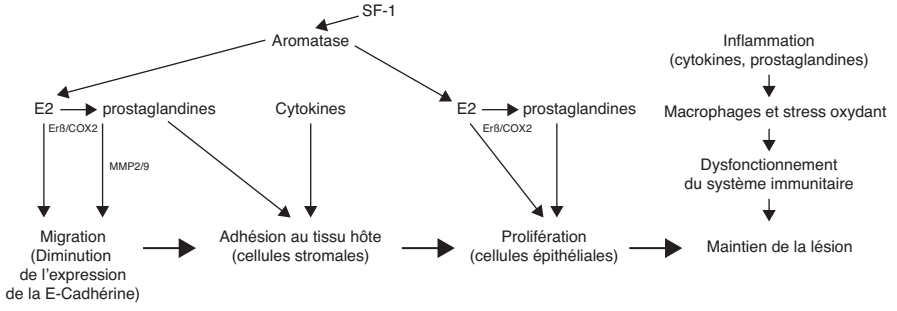


Figure 18.2 : Mécanismes biologiques impliqués dans l'établissement d'une endométriose

Données épidémiologiques

La plupart des études identifiées ont porté sur des pesticides organochlorés, alors qu'une seule étude a porté sur des pesticides « moins persistants » appartenant aux familles des organophosphorés ou des pyréthrinoïdes (Li et coll., 2020) (tableau 18.I, voir en fin de ce chapitre). L'association entre l'exposition aux pesticides organochlorés et risque d'endométriose a été explorée dans deux revues systématiques de la littérature avec méta-analyse (Cano-Sancho et coll., 2019 ; Wen et coll., 2019). La méta-analyse de Cano-Sancho et coll. portait sur une sélection de 17 études sur les polluants organiques persistants (POP) dont 5 qui incluaient des pesticides organochlorés, et celle de Wen et coll. portait sur une sélection de 30 études sur les perturbateurs endocriniens dont 8 qui incluaient des pesticides organochlorés. S'agissant des pesticides organochlorés, l'analyse de Cano-Sancho et coll. aboutissait à un *Odds Ratio* (OR) global de 1,23 ; IC 95 % [1,13-1,36] tandis que celle de Wen et coll. aboutissait à un OR de 1,40 ; IC 95 % [1,02-1,92]. Les deux méta-analyses sont donc arrivées à des conclusions assez similaires et nous avons choisi ici de ne détailler que l'étude la plus rigoureuse pour résumer la littérature sur la question du lien entre pesticides organochlorés et risque d'endométriose. Les études incluses dans les deux méta-analyses ont ensuite été détaillées individuellement.

Méta-analyse

Cano-Sancho et coll. ont réalisé une méta-analyse et revue systématique de la littérature épidémiologique sur l'exposition aux composés organochlorés et le risque d'endométriose (Cano-Sancho et coll., 2019). Ont été considérées les études publiées en anglais jusqu'à août 2018 comprenant les mesures d'exposition aux dibenzodioxines ou dibenzofuranes polychlorés, des PCB, ou des pesticides organochlorés. Les actes de conférences, les revues et les données redondantes n'étaient pas inclus dans l'analyse. Le paramètre d'évaluation principal de la revue était la présence d'endométriose (incluant l'ensemble des sous-types), quel que soit l'âge ou l'IMC des participants.

Un protocole de revue systématique enregistré dans PROSPERO[72] a été appliqué en double pour rassembler et extraire les articles originaux. Les OR ont été moyennés en pondérant par l'inverse des variances dans une méta-analyse à effets aléatoires. Le risque de biais a été évalué avec un outil de notation du NTP/OHAT adapté à la revue, et le degré de confiance sur

72. Un registre prospectif des revues systématiques disponible à l'adresse : https://www.crd.york.ac.uk/prospero/ [consulté le 3 juin 2020].

l'ensemble des résultats, qui ont été structurés et présentés en accord avec les recommandations des PRISMA, a été évalué par l'outil GRADE[73].

Sur les 51 études retenues pour la lecture des articles complets, 5 donnaient les niveaux d'associations et informations suffisantes sur les pesticides pour moyenner les estimations dans une méta-analyse. L'exposition aux pesticides organochlorés (sans distinction) était associée à une augmentation de risque d'endométriose (OR = 1,23 ; IC 95 % [1,13-1,36]). Cette estimation est, selon les auteurs, à considérer avec précaution étant donnée l'hétérogénéité entre les études. Cette hétérogénéité peut être liée à différents paramètres, dont la mesure de l'exposition et la façon de la considérer (continue ou catégorielle), la matrice analysée (tissus adipeux ou sérum) et le recours ou non à une laparoscopie chez les témoins. Le risque d'erreurs liées à la définition de la maladie (en cas d'auto-déclaration ou d'utilisation des données extraites des dossiers médicaux) a aussi été identifié comme une source importante d'incertitude.

Le niveau de preuve de l'association était considéré comme « modéré » avec un risque de biais potentiellement « sérieux » par les auteurs, qui concluaient à la nécessité de recherches épidémiologiques bien menées afin de combler les limites méthodologiques des études actuelles.

Études cas-témoins sur les pesticides organochlorés

Parmi les 5 études sur les pesticides organochlorés prises en compte dans la méta-analyse de Cano-Sancho et coll. (2019) figuraient une étude dite de « cohorte » et quatre études cas-témoins. Les principaux résultats sont présentés ci-dessous.

Une première étude américaine, réalisée dans l'Utah et en Californie, reposait sur deux cohortes recrutées en 2007-2009 ; l'une de 473 femmes de 18 à 44 ans opérées par laparoscopie ou par laparotomie (quelle que soit l'indication, sauf des cas d'endométriose) et l'autre de 127 femmes en population (Buck Louis et coll., 2012). Ces deux cohortes étaient appariées sur l'âge et le lieu de résidence. À l'inclusion, un questionnaire et un examen anthropométrique étaient réalisés deux mois avant chirurgie (dans la première cohorte) ou IRM (dans la seconde). L'exposition étant évaluée de manière concomitante avec la recherche d'une endométriose, l'étude n'est pas une

73. NTP/OHAT : *National Toxicology Program/Office of Health Assessment and Translation – Risk of Bias Rating Tool for Human and Animal Studies* ; PRISMA : *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* ; GRADE : *Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*.

cohorte au sens où on l'entend habituellement en épidémiologie, mais plutôt une enquête transversale excluant les cas précédemment diagnostiqués. Un algorithme a été utilisé pour classer l'endométriose selon le stade de sévérité. Dans la cohorte « opérée », l'endométriose était définie par visualisation puis qualifiée par examen histologique. Tandis que dans la cohorte en population, l'endométriose diagnostiquée par IRM était essentiellement une endométriose ovarienne. Les échantillons de tissu adipeux viscéral (uniquement pour la cohorte « opérée ») et de sérum (pour les deux cohortes) ont été analysés pour les pesticides organochlorés suivants : hexachlorobenzène (HCB), β- et γ-hexachlorocyclohexane (HCH), oxychlordane, *cis-* et *trans-*nonachlore, *cis-* et *trans-*chlordane, p,p'-dichlorodiphényltrichloroéthane (p,p'-DDT) et ses métabolites o,p'-DDT et p,p'-dichlorodiphényldichloroéthylène (p,p'-DDE). Les isomères d'un même pesticide (HCH) étaient retrouvés associés à une augmentation de risque d'endométriose dans les deux cohortes : le γ-HCH était le seul pesticide associé à une élévation du risque dans la cohorte de femmes opérées (OR ajusté = 1,27 ; IC 95 % [1,01-1,59] pour chaque augmentation d'un écart-type de γ-HCH log-transformé), tandis que le β-HCH était le seul pesticide associé au risque dans la cohorte en population (OR ajusté = 1,72 ; IC 95 % [1,09-2,72]). Les associations étaient présentes avant et après ajustement sur l'âge, une variable composite entre antécédent d'allaitement et parité, l'IMC, et la cotinine comme mesure d'exposition au tabagisme, ainsi que les lipides sériques totaux.

Une étude cas-témoins américaine incluait 84 participantes parmi 100 femmes de 18 à 40 ans qui avaient subi une laparoscopie en 1999-2000 (Cooney et coll., 2010). Pour 80 d'entre elles, les taux sériques de six pesticides ont été mesurés : aldrine, β-HCH (ou β-*benzene hexachloride* ; β-BHC), DDE, HCB, mirex, et *trans-*nonachlore. Parmi les participantes, 32 avaient été diagnostiquées avec endométriose par biopsie (dont 20 cas classifiés comme minimes ou légers, et 12 cas classifiés comme modérés ou sévères selon la classification de *l'American Fertility Society*) et 52 n'avaient pas d'endométriose identifiée (témoins). Par régression logistique, le tercile le plus élevé du fongicide aromatique (HCB) était associé à une augmentation de risque d'endométriose (OR ajusté = 5,3 ; IC 95 % [1,2-23,6]) comparé au plus faible, après ajustement sur le tabagisme et concentration de lipides sériques. Cette association n'était pas statistiquement significative pour le tercile intermédiaire (OR ajusté = 1,9 ; IC 95 % [0,5-7,3]). L'ajustement sur les lipides avait plutôt tendance à augmenter les associations. Des résultats similaires, mais non significatifs, étaient retrouvés pour le *trans-*nonachlore. Des tendances positives étaient observées pour l'aldrine, le β-HCH et le mirex, mais l'interprétation de ces résultats est limitée par le faible taux de détection de ces molécules.

Dans une étude cas-témoins en population générale, dans l'État de Washington, des femmes de 18 à 49 ans ont été incluses à partir d'un grand centre de santé (Upson et coll., 2013). Les concentrations de pesticides organochlorés étaient mesurées dans le sérum de cas confirmés par chirurgie (n = 248), diagnostiqués en 1999-2001 et chez des témoins de la population (n = 538) appariés sur l'âge (classes de 5 ans). Les OR et IC 95 % ont été calculés par régression logistique non conditionnelle, ajustés sur âge, année, lipides sériques, éducation, ethnie, tabagisme, et consommation d'alcool. Les résultats ont montré que le β-HCH et le mirex étaient positivement associés à l'endométriose. Pour le β-HCH, le 3e quartile d'exposition comparé au plus faible : OR = 1,7 ; IC 95 % [1,0-2,8] ; le 4e comparé au plus faible quartile : OR = 1,3 ; IC 95 % [0,8-2,4] et pour le mirex, la catégorie la plus élevée comparée à la plus faible : OR = 1,5 ; IC 95 % [1,0-2,2]. L'association avec le β-HCH était plus forte lorsque l'analyse était restreinte aux cas d'endométriose ovarienne (3e comparé au dernier quartile : OR = 2,5 ; IC 95 % [1,5-5,2] ; 4e comparé au plus faible quartile : OR = 2,5 ; IC 95 % [1,1-5,3]).

Dans une étude cas-témoins, Ploteau et coll. ont évalué l'association entre l'exposition aux POP et la présence d'endométriose profonde avec ou sans endométriose ovarienne (Ploteau et coll., 2017). Les femmes incluses avaient entre 18 et 45 ans. Des échantillons de sérum et de tissu adipeux (sous-cutané et viscéral) ont été prélevés à partir des cas confirmés chirurgicalement (n = 55) et de témoins (n = 44) inclus entre 2013 et 2015 (Pays de la Loire, France). Les témoins avaient consulté pour des motifs gynécologiques bénins (ligature des trompes, prolapsus génital, kystectomie ovarienne) sans symptôme clinique évocateur d'un diagnostic d'endométriose profonde en absence d'exploration invasive. L'âge, l'IMC, l'origine ethnique et la région de résidence des cas et des témoins étaient similaires. Les taux de 76 composés, dont des dioxines, des PCB, des polybromodiphényléthers (PBDE), des polybromobiphényles (PBB), des hexabromocyclododécanes (HBCD) et des pesticides organochlorés ont été quantifiés par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse. Les taux sériques de POP étaient ajustés sur les lipides totaux en considérant la somme des phospholipides, triglycérides, cholestérol total et cholestérol libre. Le modèle final incluait l'âge et l'IMC comme covariables, car les autres variables considérées ne modifiaient pas les estimations de façon importante (variations des OR inférieures à 10 %). Les résultats montraient des associations significatives entre le risque d'endométriose et les niveaux de plusieurs pesticides organochlorés dont le *trans*-nonachlore, le *cis*-heptachlor époxyde, la dieldrine, le β-HCH et l'HCB dans le tissu adipeux. L'association avec le *cis*-heptachlor époxyde (OR = 5,36 ; IC 95 % [2,44-14,84]) était la deuxième la plus forte après un autre POP (non pesticide) par augmentation d'un écart-type de concentration

log-transformée. Dans cette étude, les relations étaient généralement plus marquées avec les concentrations mesurées dans le tissu adipeux que dans le sérum, possiblement en raison d'un meilleur taux de détection ; ils étaient également plus marqués quand les cas avaient en plus une endométriose ovarienne.

La même équipe de chercheurs a par la suite publié une analyse informatique des données sur cette population française en tenant compte de la multi-exposition aux POP (Matta et coll., 2020). Par des analyses de « *machine learning* », les auteurs ont montré que le *cis*-heptachlore époxyde apparaissait (avec 2 autres POP) comme associé au risque d'endométriose dans les 5 modèles utilisés. Le *trans*-nonachlore était identifié par 4 modèles et l'oxychlordane dans 3 des 5 modèles. Les modèles étaient les suivants : régression logistique, réseaux de neurones, machines à vecteurs de support, « *adaptive boosting* », et analyse discriminante par moindres carrés partiels. Les résultats obtenus sont cohérents avec l'analyse précédente. Dans les cas d'expositions hautement corrélées, cet article montre comment des techniques statistiques avancées pourraient être utiles pour la modélisation des expositions aux polluants, et constituer une approche complémentaire aux analyses statistiques classiques.

Une étude cas-témoins hospitalière italienne a également porté sur l'association entre POP, incluant des pesticides organochlorés, et endométriose (Porpora et coll., 2009). Dans cette population de 80 cas et 78 témoins de 18 à 45 ans, le p,p'-DDE et le HCB ont été dosés. Les patientes étaient des femmes qui avaient eu une laparoscopie pour endométriose ou autre motif gynécologique bénin, entre 2002 et 2005. Les pesticides étaient classés en terciles d'exposition. La concentration de p,p'-DDE était supérieure chez les cas par rapport aux témoins. Les résultats suggèrent une tendance à l'augmentation de risque d'endométriose en fonction de l'exposition au DDE après ajustement sur âge, tabagisme, IMC, et changement de poids : OR = 1,54 ; IC 95 % [0,66-3,58] pour le 2^{e} tercile et OR = 2,14 ; IC 95 % [0,93-4,93] pour le 3^{e} tercile de concentration par comparaison au 1er tercile.

Enfin, quelques études n'ont pas été retenues par Cano-Sancho et coll. dans leur méta-analyse récente (Cano-Sancho et coll., 2019) car elles ne présentaient pas de mesure d'association qui permettait de calculer un méta-OR. Il était néanmoins important d'évoquer ces études qui concluent toutes les trois à une absence d'association.

En 1998, Lebel et coll. avaient publié le premier article sur le lien entre les organochlorés et risque d'endométriose (Lebel et coll., 1998). Dans cette étude cas-témoins réalisée au Canada chez des femmes de 18 à 50 ans non

ménopausées se présentant dans des centres spécialisés en 1994, les 86 cas et les 70 témoins avaient subi une laparoscopie pour différentes indications (douleurs pelviennes, infertilité, fulguration tubaire). Onze pesticides organochlorés avaient été mesurés dans le sang. En raison des fortes corrélations entre les pesticides, les analyses, considérant l'exposition de différentes manières (en continu, quartiles ou terciles), étaient réalisées en sommant les concentrations pour d'une part α- et γ-chlordane, oxychlordane, *cis-* et *trans-*nonachlore ; et d'autre part p,p'-DDT et p,p'-dichlorodiphényldichloroéthane (p,p'-DDD). Les autres pesticides étaient : l'aldrine, le β-HCH, l'HCB, et le mirex. Les modèles ajustés sur l'âge, l'IMC, la parité, et l'indication de la laparoscopie ne montraient pas d'association avec le risque d'endométriose.

Une étude cas-témoins menée à Atlanta en 1998-1999, qui avait pour objectif principal de tester s'il existait une relation entre endométriose et les concentrations sériques de dioxines et de PCB parmi des femmes de 20 à 45 ans sans enfant, a également fourni des données pour le p,p'-DDE (Niskar et coll., 2009). Les cas d'endométriose (n = 60) ont été confirmés par visualisation et par biopsie au cours d'une laparoscopie de la cavité péritonéale, des ovaires, de l'extérieur des trompes de Fallope et de l'utérus. Les témoins étaient des femmes ayant consulté la même clinique d'assistance à la procréation pour qui l'absence d'endométriose était confirmée par laparoscopie (n = 30), ou des femmes sans signe ou symptôme de la maladie avec un partenaire stérile (n = 27) ou des problèmes d'ovulation (n = 7). Le risque d'endométriose associé à l'exposition au DDE a été analysé pour l'ensemble des participants et pour un sous-échantillon de cas et de témoins avec confirmation chirurgicale, en utilisant des modèles de régression logistique avec des variables d'exposition continues ou dichotomisées à la médiane. Dans cette population, l'exposition au DDE était un peu plus élevée que chez les femmes du même âge en population générale dans une cohorte historique (NHANES)[74]. Les variables de confusion considérées étaient l'âge, le niveau d'éducation, le nombre de grossesses précédentes, le revenu, le tabagisme, l'utilisation de tampons. Les concentrations sériques (ajustées ou non sur les lipides totaux) du DDE étaient comparables pour les cas et les témoins et n'expliquaient donc pas le risque d'endométriose dans cette étude.

Tsukino et coll. ont exploré le lien entre l'exposition aux POP et le risque d'endométriose dans une étude cas-témoins (Tsukino et coll., 2005). Les participantes de 20 à 45 ans étaient 139 femmes japonaises consultant pour des problèmes d'infertilité en 1999-2000 et examinées par laparoscopie et diagnostiquées comme cas d'endométriose (stades II-IV selon la classification

74. *National Health and Nutrition Examination Survey*.

de l'*American Fertility Society*, n = 58) ou témoins (stades 0-I, n = 81). Les pesticides ou leurs métabolites mesurés étaient les suivants : dieldrine, HCB, β- et λ-HCH, heptachlor époxyde, oxychlordane, *trans*-nonachlore, p,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'-DDT, et mirex. Les pesticides organochlorés sont lipophiles et se concentrent ou sont transportés par des lipides, dont ceux du sérum. Pour prendre cela en compte, leurs concentrations ont été ajustées sur les niveaux de lipides sériques totaux. Les OR étaient ajustés sur la régularité du cycle (binaire) et la durée moyenne des cycles (en jours). Les niveaux de concentrations ont été normalisés par log transformation. Les concentrations sériques de pesticides ne différaient pas significativement entre les cas et les témoins. En l'absence de report des résultats chiffrés pour les pesticides dans l'article, il n'a pas été possible d'interpréter les résultats de cette étude. En outre, comme le signalent Cooney et coll., l'interprétation est aussi rendue difficile par l'absence de groupe indemne d'infertilité ou d'endométriose et le possible sur-ajustement sur les caractéristiques du cycle menstruel qui peuvent être la manifestation de l'endométriose elle-même ou sur le chemin causal (Cooney et coll., 2010).

Étude sur d'autres familles de pesticides

Une étude très récente (Li et coll., 2020) a évalué dans les mêmes populations que l'article de Buck Louis (Buck Louis et coll., 2012), décrit ci-dessus, l'association entre risque d'endométriose et les métabolites urinaires de pesticides organophosphorés, d'insecticides pyréthrinoïdes, et d'herbicides phénoxys. L'article concluait que des expositions élevées au diazinon (composé parent du IMPy) ou au chlorpyrifos et chlorpyrifos-méthyl (composés parents du 3,5,6-trichloro-2-pyridinol ; TCPy) pourraient être associées au risque d'endométriose. Onze substances actives ou leurs métabolites appartenant à des familles autres que celle des organochlorés, ont été dosées chez 619 femmes en âge de procréer dans les États de l'Utah et de Californie. L'association a été étudiée chez 594 femmes ayant eu une laparoscopie ou laparotomie (cohorte « opérée », n = 471) ou une IRM pelvienne (cohorte en population, n = 123), sur la période 2007-2009. Les deux cohortes étaient appariées sur l'âge et le lieu de résidence. Les critères d'inclusion étaient les suivants : pas d'antécédent d'endométriose chirurgicalement visualisable, pas de traitement hormonal par injection au cours des deux années précédentes, pas d'allaitement au cours des 6 derniers mois, pas d'antécédent de cancer. Chez les 471 femmes de la cohorte « opérée » ayant eu une laparoscopie ou une laparotomie, 188 (40 %) ont eu un diagnostic d'endométriose. Les cas étaient catégorisés en 4 groupes de gravité selon la classification de l'*American Society for Reproductive Medicine* (ASRM, 1997) : 106 en stade minimal

et 27, 22 et 28 respectivement en stades 2, 3 et 4. Les femmes de la cohorte en population avaient une IRM pour l'évaluation de l'endométriose (meilleure sensibilité pour les stades 3 et 4). Sur les 123 femmes de la cohorte en population ayant eu une IRM pelvienne, 14 (11 %) ont été diagnostiquées avec endométriose. Les composés dosés étaient les suivants : 2-isopropyl-4-méthyl-6-hydroxypyrimidine (IMPy), acide dicarboxylique de malathion (MDA), paranitrophénol (PNP), TCPy, acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), acide 4-fluoro-3-phénoxybenzoïque (4F3-PBA), acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D), acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique (2,4,5-T), acide *trans*/*cis*-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique (*trans*/*cis*-DCCA) et acide *cis*-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique (*cis*-DBCA). La substance détectée aux concentrations les plus importantes était l'IMPy, suivi de PNP et TCPy. L'IMPy, MDA, PNP, TCPy, 2,4-D et 3-PBA étaient les principaux pesticides/métabolites retrouvés avec une fréquence de détection de 95 à 100 %. Les métabolites d'insecticides pyréthrinoïdes, dont le 4F3-PBA et le *trans*/*cis*-DCCA (métabolites de cyfluthrine, fluméthrine, cyperméthrine et perméthrine) et le *cis*-DBCA (un métabolite spécifique de deltaméthrine) étaient détectés dans 47 à 80 % des échantillons, alors que le niveau de détection de 2,4,5-T était seulement de 0,8 %. Les analyses de données étaient restreintes aux analytes avec une fréquence de détection de > 80 % dans tous les échantillons. Il n'y avait pas de différence significative dans la somme des concentrations de ces six pesticides entre les femmes avec ou sans endométriose dans les deux cohortes. Séparément, des concentrations plus élevées de PNP et TCPy étaient retrouvées chez les femmes avec ou sans endométriose dans la cohorte « opérée » par rapport à celle en population. De plus, les femmes témoins avaient des concentrations plus élevées de 3-PBA mais plus faibles d'IMPy ($p < 0,05$) dans la cohorte « opérée » que dans celle en population.

Une augmentation du risque du diagnostic d'endométriose a été constatée chez les femmes dans le 4^{e} quartile d'exposition à l'IMPy (OR = 1,89 ; IC 95 % [1,12-3,20], pour la cohorte « opérée », n = 471) comme pour celles dans le 2^{e} quartile d'exposition à TCPy (OR = 1,65 ; IC 95 % [1,02-2,69], pour les deux cohortes ensemble, n = 594) comparées à celles du premier quartile. Après ajustement des modèles logistiques sur les facteurs de confusion potentiels comme lieu, âge, race/ethnie, parité, revenus de la famille, tabagisme, alcool et créatinine urinaire (µg/g), les associations devenaient non significatives statistiquement, mais n'étaient finalement que faiblement atténuées. Les tendances linéaires pour tous les composés selon les quartiles (médiane de la concentration urinaire dans chaque quartile comme variable continue dans le modèle) étaient significatives dans les modèles ajustés dans la cohorte « opérée » et le jeu de données complet.

Les limites de cette étude sont le faible nombre de cas d'endométriose dans la cohorte en population et le fait que les analyses ont été basées sur un seul échantillon urinaire ponctuel, ce qui pose question sur la représentativité des résultats au regard d'une longue période d'exposition.

Données mécanistiques

Plusieurs mécanismes sont évoqués pour expliquer les associations observées dans l'hypothèse d'un rôle causal éventuel des pesticides dans l'endométriose (figure 18.3), et en particulier les organochlorés.

Immunomodulation et inflammation

Corsini et coll. évoquent le rôle immunomodulateur de plusieurs pesticides comme des carbamates (aldicarbe), des organochlorés (chlordane, DDT, DDE, lindane), des herbicides (atrazine), des fongicides (HCB, mancozèbe, pentachlorophénol ou PCP, tributylétain, triphénylétain, zirame), des organophosphorés (chlorpyrifos, malathion) ou des pyréthrinoïdes (Corsini et coll., 2008). Les principales cellules ciblées seraient les cellules NK (atrazine, chlordane, organophosphorés, PCP, tributylétain, zirame), certains lymphocytes T (aldicarbe, organophosphorés, PCP) et les macrophages (voir ci-dessous).

Est évoquée également une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par les macrophages (cellules responsables de la phagocytose) localisés à proximité de cellules endométriales ectopiques. Certains pesticides (organophosphorés, organochlorés, bipyridines, pyréthrines, glyphosate) sont connus pour influencer la production d'ERO au niveau macrophagique (Gupta et coll., 2006 ; Astiz et coll., 2009 ; Lushchak et coll., 2009 ; Turkyilmaz et coll., 2016) ; pour rappel, cette production déséquilibrée d'ERO au niveau ovarien pourrait être responsable de phénomènes d'infertilité observés fréquemment en cas d'endométriose. Les espèces réactives de l'azote sont aussi impliquées dans les mécanismes biologiques inhérents à l'endométriose probablement *via* la stimulation de l'angiogenèse (voie de signalisation du NO et stimulation du VEGF) (Asghari et coll., 2018).

Cette évocation d'un dysfonctionnement de nombreuses cellules immunitaires notamment des macrophages permet de rappeler que les endométrioses sont des pathologies inflammatoires. Or, de nombreux pesticides contribuent à l'inflammation et sont donc susceptibles de les favoriser (Asghari et coll., 2018). Ce fait est illustré par une étude de Quaranta et coll. qui ont montré qu'une exposition de cellules mononucléaires périphériques sanguines

normales au p,p'-DDE provoque une diminution d'activité de cellules NK et de production d'IL-1β et IL-12 (Quaranta et coll., 2006). Dans cette étude utilisant une double approche expérimentale et épidémiologique, les auteurs ont aussi retrouvé une diminution de l'activité cytotoxique de cellules NK du sang périphérique et une diminution de production d'IL-1β et IL-12 en lien avec la concentration sérique de p,p'-DDE chez des patientes atteintes d'endométriose par rapport à un groupe contrôle. À noter que les faibles effectifs de cette étude (10 cas confirmés par laparoscopie et biopsie *versus* 8 témoins hospitalières ayant subi une laparoscopie pour d'autres indications gynécologiques) rendent les conclusions difficilement interprétables.

Le rôle de l'inflammation dans la pathologie est illustré par deux études récentes sur le fongicide HCB (Chiappini et coll., 2016 ; Chiappini et coll., 2019). Ces auteurs montrent, à l'aide de différents modèles cellulaires (lignée humaine stromale endométriale, cultures primaires de fibroblastes humains d'utérus ou de cellules stromales endométriales humaines) et animal (endomètre de rat) que le HCB lie le récepteur AhR (également le récepteur des dioxines suspectées d'exercer un effet pro-invasif) dans le cytoplasme ce qui provoque la libération et l'activation de la kinase c-Src normalement associée au complexe cytoplasmique du AhR. Src active COX2 et la production de PGE2 ce qui a pour conséquence une augmentation d'activité des métalloprotéinases MMP2 et MMP9. Ces enzymes dégradent la matrice extracellulaire et facilitent ainsi la migration des cellules endométriales (Chiappini et coll., 2016). Dans l'endomètre de rat, l'expression des MMP2 et 9 est aussi augmentée (Chiappini et coll., 2019) ; une exposition à l'HCB, à la dose de 10 mg/kg de poids corporel par gavage (trois fois par semaine pendant 30 jours), augmente l'expression de AhR, de COX2 (suggérant un renforcement du mécanisme précité) et du VEGF, ce qui est cohérent avec les lésions précitées comportant une plus forte densité de vascularisation (stimulée par le VEGF).

Perturbation endocrinienne

Une production accrue d'œstrogènes au niveau des lésions endométriales contribue par la stimulation des récepteurs nucléaires ER, à leur migration et à leur prolifération. Une étude menée sur des cellules primaires humaines endométriales en culture (enrichies à près de 98 % en cellules stromales, et ne contenant quasiment pas de cellules épithéliales) montre que le p,p'-DDE est capable d'augmenter modestement l'activité de l'aromatase à partir de 50 ng/ml (Holloway et coll., 2005). L'implication du système œstrogénique est également suggérée par une étude menée *in vivo* sur des rats (modèle

chirurgical d'endométriose par implantation d'une corne utérine à proximité d'un vaisseau mésentéral) ; les rats après ovariectomie au jour 21 sont exposés à du méthoxychlore, un pesticide pro-œstrogénique. L'œstradiol (en tant que contrôle) et le méthoxychlore favorisent tous deux le développement de l'endométriose tandis que la progestérone provoque une régression de celle-ci (Cummings et Metcalf, 1995). L'endométriose est par ailleurs associée à un état de résistance à la progestérone qui, entre autres, diminue l'expression de cytokines pro-inflammatoires (Patel et coll., 2017). Cette hypothèse est concordante avec la répression de l'activité du récepteur de la progestérone par l'ERβ.

Toutefois, d'autres pesticides comme le glyphosate sont suspectés de bloquer la synthèse des œstrogènes *via* deux mécanismes : *i*) une étude montre que le « Roundup », formulation du glyphosate, inhibe l'expression de la protéine StAR (*Steroidogenic Acute Regulatory*) qui permet le transfert de cholestérol dans la mitochondrie, processus à la base de la synthèse de nombreux stéroïdes (Walsh et coll., 2000) ; *ii*) une autre étude suggère un blocage de l'aromatase par le glyphosate (Richard et coll., 2005).

Ces deux modes de modulation ne sont toutefois pas nécessairement à opposer dans le processus d'endométriose. Ainsi, l'aromatase et les œstrogènes semblent jouer un rôle important dans les processus de migration et prolifération des tissus endométriaux ectopiques. Ces processus biologiques sont d'ailleurs mis à profit dans les traitements envisagés pour ces pathologies. Mais, dans les endométrioses profondes, les niveaux d'expression des récepteurs nucléaires hormonaux diminuent avec le degré d'infiltration de la lésion, suggérant une moindre contribution de ces hormones.

Au-delà de la perturbation endocrinienne, des atteintes des systèmes de détoxification pourraient aussi être évoquées pour étudier le lien causal entre pesticides et endométriose : ainsi, l'activité de la paraoxonase 1 est diminuée chez les patientes atteintes d'endométriose en comparaison de personnes sans atteinte (Verit et coll., 2008). Or, cette enzyme est une cible des organophosphorés (Medina-Díaz et coll., 2017).

Altérations épigénétiques potentielles

Des altérations épigénétiques endométriales qui pourraient être dues à la présence d'agents environnementaux, sont également évoquées pour expliquer en partie la perturbation endocrinienne. Bien qu'aucune étude ne puisse établir un lien entre une exposition aux pesticides et l'endométriose, de

nombreux pesticides influencent les niveaux de méthylation de certains gènes clés.

Ainsi le niveau de méthylation des promoteurs des facteurs de transcription SF1 (*Steroidogenic factor* 1) et ERβ semble fluctuer dans les cellules stromales endométriales. Ceux-ci sont hyperméthylés en condition normale (Bulun, 2009). En cas d'hypométhylation (Xue et coll., 2007b), SF1 activerait l'expression de l'aromatase, qui produirait de l'œstradiol responsable de la stimulation du ERβ (lui-même exprimé en plus grande quantité du fait de l'hypométhylation) ce qui provoquerait une activation de la COX2 à l'origine d'une production accrue de PG (par exemple PGE2) qui agiraient aussi positivement sur l'activité de l'aromatase. Cette série d'évènements (autoentretenus) aboutirait ainsi à une forte production d'œstradiol à l'origine de la migration de cellules endométriales (Bulun, 2009). Une hypométhylation des promoteurs de l'aromatase (Izawa et coll., 2008) et du ERβ (Xue et coll., 2007a) peut être aussi observée dans les cellules stromales endométriales.

Une hyperméthylation peut aussi être observée pour certains gènes à l'origine de modifications phénotypiques majeures pour les cellules endométriales.

Le gène *HOXA10* code un facteur de transcription favorisant le développement de l'endomètre lors de la période éventuelle d'implantation. L'hyperméthylation de son promoteur pourrait être associée à une infertilité car elle réduirait le développement de l'endomètre et les chances d'implantation (Wu et coll., 2005). De même, la diminution de l'expression de l'E-cadhérine, protéine transmembranaire contribuant à l'adhésion entre cellules épithéliales, a été démontrée dans une étude au sein de cellules endométriales du fait d'un traitement par la trichostatine A, un inhibiteur de l'histone déacétylase (Wu et coll., 2007 ; Ballester et coll., 2012a). Ce phénomène semble également associé à une hyperméthylation de son promoteur. Il fait écho aux études montrant que les dioxines (qui peuvent aussi favoriser un stress oxydant) *via* le AhR, diminuent l'expression de l'E-cadhérine par augmentation de l'expression de facteurs transcriptionnels répresseurs comme Snail et Slug qui se lient dans le promoteur de ce gène (Bui et coll., 2009 ; Pierre et coll., 2014 ; Duval et coll., 2017).

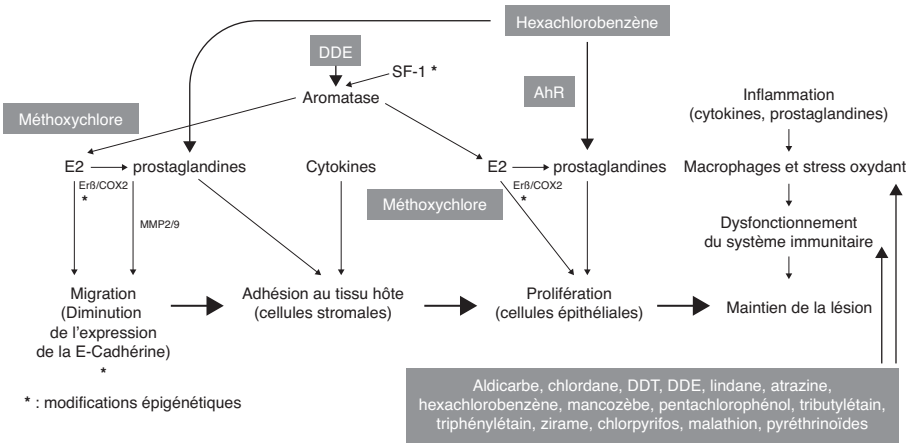


Figure 18.3 : Hypothèses des mécanismes biologiques suggérant un rôle causal ou participatif des pesticides dans l'établissement d'une endométriose via un effet pro-inflammatoire, hormonal ou épigénétique

Conclusion

L'endométriose est une maladie complexe à diagnostiquer, impliquant probablement plusieurs mécanismes physiopathologiques pour expliquer les différents sous-types. Plusieurs hormones (dont les œstrogènes) sont suspectées d'intervenir dans les processus pathologiques à l'origine des endométrioses et il est donc logique de suspecter certains perturbateurs endocriniens comme agents environnementaux étiologiques.

Sur le plan épidémiologique, la méta-analyse de Cano-Sancho et coll. qui a fait l'état des lieux de la littérature pour les pesticides organochlorés concluait à une association entre exposition et endométriose, mais avec un risque de biais important du fait de l'hétérogénéité des études. Une seule étude cas-témoins a porté sur les autres familles chimiques de pesticides et concluait à un lien possible avec le diazinon et chlorpyrifos/chlorpyrifos-méthyl. À notre connaissance, aucune étude prospective n'a été publiée sur pesticides et endométriose à ce jour. Par ailleurs, les témoins sont souvent des femmes présentant également des pathologies liées à la sphère gynécologique où les œstrogènes sont également souvent impliqués.

En revanche, dans la plupart des études, la maladie est très bien définie car les femmes, subissant une intervention chirurgicale, sont diagnostiquées par des techniques de référence. La réalisation d'un diagnostic précis constitue donc possiblement un frein à l'étude de cette pathologie en population générale. Dans une étude préliminaire, George et coll. rapportent une technique

non invasive qui pourrait résoudre cette équation défavorable au diagnostic de la maladie et faciliter la réalisation des études en population générale (George et coll., 2014). La technique repose sur le fait que, pour les cas d'endométriose exprimant le récepteur aux œstrogènes, l'administration d'un analogue d'œstrogène marqué (le 16α-[^{18}F]fluoro-17β-œstradiol) permet l'imagerie des lésions endométriales par la tomographie par émission de positrons.

Étant donnée la complexité de l'endométriose et le manque de marqueurs adaptés pour des études en population, des études observationnelles de haute qualité méthodologique joueraient un rôle important pour mieux comprendre l'étiologie de l'endométriose.

Sur le plan mécanistique, l'immunomodulation de l'activité cytotoxique des cellules NK ou de la fonction macrophagique (associée à une inflammation) est retrouvée à de multiples niveaux (association clinique et/ou études expérimentales) avec différentes classes de pesticides (dont les organochlorés mentionnés dans les études épidémiologiques). Ces dérégulations expliqueraient à la fois la migration favorisée des cellules endométriales et l'absence d'élimination de celles-ci au niveau des lésions. Comme rappelé précédemment, l'influence des œstrogènes semble essentielle mais avec une complexité qui nécessite probablement de prendre en compte la temporalité d'action de pesticides pro- ou anti-œstrogéniques. Le rôle de l'épigénétique en tant que processus conduisant à des variations d'expressions d'acteurs clés de l'endométriose (aromatase, récepteurs aux œstrogènes...), demeure insuffisamment exploré et pourrait permettre de définir des profils de sensibilité au développement de cette pathologie, qui représente du fait de son sous-diagnostic et des conséquences sociétales qui lui sont associées (invalidité, arrêts de travail...) un problème majeur de santé publique.

Tableau 18.I : Études sur le lien entre exposition aux pesticides et l'endométriose

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Mesure de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Buck Louis et coll., 2012 États-Unis (Utah et Californie)	*Design* complexe (cohortes appariées) Étude ENDO *(Endometriosis : Natural History, Diagnosis and Outcomes)*	Patientes de 18 à 44 ans opérées pour une laparoscopie ou une laparotomie (n = 473), et femmes en population (n = 127) Recrutement en 2007-2009 Appariées sur l'âge et le lieu de résidence	Cohorte « opérée » : visualisation chirurgicale (méthode de référence), typée par examen histologique Cohorte « population » : visualisation IRM (principalement endométriomes ovariens) Classification selon le stade de sévérité par un algorithme	Dosage de 11 pesticides OC dans les échantillons de tissu adipeux (cohorte « opérée ») et de sérum (cohorte « population » et « opérée »	Âge, antécédent d'allaitement et parité, IMC, tabagisme (cotinine), lipides (dans les modèles sur sérums)	γ-HCH (cohorte « opérée », tissu adipeux) : OR = 1,27 [1,01-1,59] β-HCH (cohorte « population », sérum) : OR = 1,72 [1,09-2,72]
Li et coll., 2020 États-Unis (Utah et Californie)	Idem	Patientes de 18 à 44 ans opérées pour une laparoscopie ou une laparotomie (n = 471), et femmes en population (n = 123), recrutement en 2007-2009 Appariées sur l'âge et le lieu de résidence	Idem	Dosage de 11 pesticides et métabolites OP, pyréthrinoïdes, herbicides phénoxys dans les échantillons urinaires	Lieu d'inclusion, âge, ethnie, parité, revenu du foyer, tabagisme et consommation d'alcool, créatinine urinaire	IMPy (métabolite du diazinon) dans la cohorte « opérée » : tendance linéaire ($p < 0,001$) ; OR = 1,72 [0,98-3,00] dans le 4e quartile TCPY (métabolite du chlorpyrifos) : OR = 1,52 [0,92-2,51] dans le 2e quartile (2 cohortes réunies)
Cooney et coll., 2010 États-Unis (New York)	Cas-témoins hospitalières (~transversale)	Patientes de 18 à 40 ans opérées pour une laparoscopie (n = 84) en 1999-2000, 32 cas	Inspection de tout le bassin au moment de l'acte chirurgical Classification selon le stade de sévérité par un algorithme	Dosage sérique de 6 pesticides OC	Lipides totaux du sérum (mg/dl sérum) et tabagisme actuel (oui/non)	Tercile d'exposition le plus élevé *versus* le plus faible : Fongicides aromatiques : OR ajusté = 5,3 [1,2-23,6] HCB : OR ajusté = 6,4 [1,0-42,8]

Tableau 18.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Mesure de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Ploteau et coll., 2017 France (Pays de la Loire)	Cas-témoins hospitalières	Femmes entre 18 et 45 ans, recrutées entre 2013 et 2015 Exclusion : antécédents ou suspicion de cancer, maladies auto-immunes, conditions chroniques Témoins (n = 44) consultant pour d'autres motifs gynécologiques mineurs, appariées sur âge, IMC Cas : endométriose profonde de stades III ou IV (n = 55), dont 26 avec endométriose ovarienne	Diagnostic chirurgical avec confirmation anatomopathologique	Taux de 76 POP (dont dioxines, PCB, PBDE, PBB, HBCD, et pesticides OC) dans le tissu adipeux	Âge, IMC	Endométriose profonde *versus* témoins (OR ajustés) : HCB : OR = 2,06 [1,20-3,91]* β-HCH : OR = 1,58 [0,94-2,80] *trans*-nonachlore : OR = 2,21 [1,24-4,28]* Oxychlordane : OR = 3,22 [1,60-7,70]** Heptachlor : OR = 5,36 [2,44-14,84]*** Dieldrine : OR = 2,71 [1,57-5,11]***
Upson et coll., 2013 États-Unis (Washington)	Cas-témoins en population générale Étude WREN (*Women's Risk of Endometriosis*)	Femmes entre 18 et 49 ans, dont le 1er diagnostic des cas était entre 1996 et 2001 Appariement des témoins sur l'âge (classes de 5 ans) Cas (n = 248) et témoins (n = 538)	Cas confirmés chirurgicalement, éventuellement par histologie	Collecte de sang au moment du questionnaire, 11 pesticides OC ou métabolites	Âge, année de la date de référence, lipides sériques, éducation, ethnicité, tabagisme, et consommation d'alcool	β-HCH : OR = 1,7 [1,0-2,8] et 1,3 [0,8-2,4] dans les 3e et 4e quartiles, relation plus forte avec l'endométriose ovarienne Mirex : OR = 1,5 [1,0-2,2] chez les plus exposées
Porpora et coll., 2009 Italie (Rome)	Cas-témoins hospitalières (~transversale)	Patientes de 18-45 ans opérées pour laparoscopie entre 2002 et 2005 Cas (n = 80) et témoins (n = 78, avec conditions gynécologiques bénignes)	Confirmation par histologie Forme ovarienne (90 %), forme profonde (7,5 %), stades III ou IV (84 %), lésions péritonéales (56 %)	Plusieurs POP dans le sérum, dont le p,p'-DDE et le HCB	Âge, tabagisme, IMC, modification de poids (> 10 kg dans les 5 années précédentes)	Pas d'association avec HCB p,p'-DDE : concentration supérieure chez les cas, OR élevé mais non significatif après ajustement : OR ajusté = 1,54 [0,66-3,58] et 2,14 [0,93-4,93] pour les 2e et 3e terciles d'exposition

Tableau 18.I : (suite)

Référence Pays	Type d'étude	Population étudiée	Définition de la maladie	Mesure de l'exposition	Facteurs d'ajustement	Résultats Commentaires
Lebel et coll., 1998 Canada (Québec)	Cas-témoins hospitalières	Femmes préménopausées de 18-50 ans ayant eu une laparoscopie en 1994 Cas (n = 86) et témoins (n = 70) appariées sur l'indication de laparoscopie	Laparoscopie, Classification des cas≠ : minime (58 %), légère (31 %), modérée (8 %), ou sévère (2 %)	11 pesticides OC à partir d'échantillons de sang	Âge, IMC, nombre d'enfants, indication de la laparoscopie	Pas d'association mise en évidence
Niskar et coll., 2009 États-Unis (Atlanta)	Cas-témoins hospitalières (~transversale)	Patientes d'une clinique d'assistance à la procréation en 1998-1999 Cas (n = 60) et témoins sans endométriose confirmée ou non par chirurgie (respectivement n = 30 et n = 34)	Laparoscopie, dont biopsie et visualisation	Plusieurs POP dont p,p'- DDE (seul métabolite de pesticide)	Aucun pour le p,p'-DDE	p,p'-DDE (concentration médiane) : 189 000 pg/g de lipides pour les cas et 145 000 pg/g de lipides pour les témoins (différence non significative, p = 0,15)
Tsukino et coll., 2005 Japon	Cas-témoins hospitalières (~ transversale)	Femmes infertiles de 20-45 ans ayant eu une laparoscopie en 1999-2000 Cas (n = 58, stades II-IV) et témoins (n = 81, stades 0-I)	Laparoscopie Stade 0 (n = 59), stade I (n = 22), stade II (n = 10), stade III (n = 23) et stade IV (n = 25)	71 composés OC incluant 13 pesticides ou métabolites mesurés dans le sérum (11, car aldrine et endrine non mesurables)	Lipides, régularité du cycle menstruel (oui/non), durée moyenne des cycles (jours)	Pas d'association mise en évidence

DDE : dichlorodiphényldichloroéthylène ; HCB : hexachlorobenzène ; HCH : hexachlorocyclohexane ; IMC : indice de masse corporelle ; OC : organochloré ; OP : organophosphoré ; PBB : polybromobiphényles ; PBDE : polybromodiphényléthers ; PCB : polychlorobiphényles ; POP : polluants organiques persistants ; Les intervalles de confiance donnés entre parenthèses sont les intervalles de 95 % ; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

≠ Selon les critères de l'*American Fertility Society*, 1985

RÉFÉRENCES

• Étude où un lien d'intérêt a été déclaré

Asghari S, Valizadeh A, Aghebati-Maleki L, *et al*. Endometriosis: Perspective, lights, and shadows of etiology. *Biomed Pharmacother* 2018 ; 106 : 163-74.

ASRM. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 1997 ; 67 : 817-21.

Astiz M, de Alaniz, MJ, Marra CA. Effect of pesticides on cell survival in liver and brain rat tissues. *Ecotoxicol Environ Saf* 2009 ; 72 : 2025-32.

Attia GR, Zeitoun K, Edwards D, *et al*. Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 ; 85 : 2897-902.

Ballester M, Gonin J, Rodenas A, *et al*. Eutopic endometrium and peritoneal, ovarian and colorectal endometriotic tissues express a different profile of nectin-1, -3, -4 and nectin-like molecule 2. *Hum Reprod* 2012a ; 27 : 3179-86.

Ballester M, Dehan P, Beliard A, *et al*. Role of genetic and environmental factors in the development of endometriosis. *Rev Med Liege* 2012b ; 67 : 374-80.

Banu SK, Lee J, Speights VO Jr, *et al*. Cyclooxygenase-2 regulates survival, migration, and invasion of human endometriotic cells through multiple mechanisms. *Endocrinology* 2008 ; 149 : 1180-9.

Bouaziz J, Mashiach R, Cohen S, *et al*. How artificial intelligence can improve our understanding of the genes associated with endometriosis: natural language processing of the PubMed database. *Biomed Res Int* 2018 ; 2018 : 6217812.

Brandenberger AW, Lebovic DI, Tee MK, *et al*. Oestrogen receptor (ER)-alpha and ER-beta isoforms in normal endometrial and endometriosis-derived stromal cells. *Mol Hum Reprod* 1999 ; 5 : 651-5.

Brosens I, Campo R, Gordts S. The ovarian endometrioma: pathophysiology, diagnosis and surgery. In : Timmerman D, Deprest JA, Bourne TH, eds. *Ultrasound and endoscopic surgery in obstetrics and gynaecology: A combined approach to diagnosis and treatment*. London, New York : Springer, 2003 : 196-203.

Buck Louis GM, Chen Z, Peterson CM, *et al*. Persistent lipophilic environmental chemicals and endometriosis: the ENDO Study. *Environ Health Perspect* 2012 ; 120 : 811-6.

Buck Louis GM, Weiner JM, Whitcomb BW, *et al*. Environmental PCB exposure and risk of endometriosis. *Hum Reprod* 2005 ; 20 : 279-85.

Bui L-C, Tomkiewicz C, Chevallier A, *et al*. Nedd9/Hef1/Cas-L mediates the effects of environmental pollutants on cell migration and plasticity. *Oncogene* 2009 ; 28 : 3642-51.

Bulun SE. Endometriosis. *N Engl J Med* 2009 ; 360 : 268-79.

Cai LY, Izumi S, Suzuki T, *et al*. Dioxins in ascites and serum of women with endometriosis: a pilot study. *Hum Reprod* 2011 ; 26 : 117-26.

Cano-Sancho G, Ploteau S, Matta K, *et al*. Human epidemiological evidence about

the associations between exposure to organochlorine chemicals and endometriosis: Systematic review and meta-analysis. *Environ Int* 2019 ; 123 : 209-23.

Chiappini F, Sánchez M, Miret N, *et al*. Exposure to environmental concentrations of hexachlorobenzene induces alterations associated with endometriosis progression in a rat model. *Food Chem Toxicol* 2019 ; 123 : 151-61.

Chiappini F, Baston JI, Vaccarezza A, *et al*. Enhanced cyclooxygenase-2 expression levels and metalloproteinase 2 and 9 activation by Hexachlorobenzene in human endometrial stromal cells. *Biochem Pharmacol* 2016 ; 109 : 91-104.

Chishima F, Hayakawa S, Sugita K, *et al*. Increased expression of cyclooxygenase-2 in local lesions of endometriosis patients. *Am J Reprod Immunol* 2002 ; 48 : 50-6.

Cooney MA, Buck Louis GM, Hediger ML, *et al*. Organochlorine pesticides and endometriosis. *Reprod Toxicol* 2010 ; 30 : 365-9.

Corsini E, Liesivuori J, Vergieva T, *et al*. Effects of pesticide exposure on the human immune system. *Hum Exp Toxicol* 2008 ; 27 : 671-80.

Cummings AM, Metcalf JL. Effects of estrogen, progesterone, and methoxychlor on surgically induced endometriosis in rats. *Fundam Appl Toxicol* 1995 ; 27 : 287-90.

Dawson A, Fernandez ML, Anglesio M, *et al*. Endometriosis and endometriosis-associated cancers: new insights into the molecular mechanisms of ovarian cancer development. *Ecancermedicalscience* 2018 ; 12 : 803.

Donnez J, van Langendonckt A, Casanas-Roux F, *et al*. Current thinking on the pathogenesis of endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2002 ; 54 Suppl 1 : 52-8 ; discussion 59-62.

Donnez J, Nisolle M, Gillerot S, *et al*. Rectovaginal septum adenomyotic nodules: a series of 500 cases. *Br J Obstet Gynaecol* 1997 ; 104 : 1014-8.

Duval C, Teixeira-Clerc F, Leblanc AF, *et al*. Chronic exposure to low doses of dioxin promotes liver fibrosis development in the C57BL/6J diet-induced obesity mouse model. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 428-36.

George A, Lefebvre-Lacœuille C, Lacœuille F, *et al*. Ciblage des tissus endométriaux par la 16α-[18F]fluoro-17β-œstradiol (PET-[18F]FES): résultats préliminaires dans le diagnostic de l'endométriose. *Médecine Nucléaire* 2014 ; 38 : 439-48.

Giudice LC. Clinical practice. Endometriosis. *N Engl J Med* 2010 ; 362 : 2389-98. •

Gupta S, Agarwal A, Krajcir N, *et al*. Role of oxidative stress in endometriosis. *Reprod Biomed Online* 2006 ; 13 : 126-34.

Haute Autorité de Santé HAS. *Prise en charge de l'endométriose*. Saint-Denis La Plaine, 2017 [consulté le 15/02/21 : https://www.has-sante.fr/jcms/c_2819733/fr/prise-en-charge-de-l-endometriose].

Heilier J-F, Nackers F, Verougstraete V, *et al*. Increased dioxin-like compounds in the serum of women with peritoneal endometriosis and deep endometriotic (adenomyotic) nodules. *Fertil Steril* 2005 ; 84 : 305-12.

Herington JL, Bruner-Tran KL, Lucas JA, *et al*. Immune interactions in endometriosis. *Expert Rev Clin Immunol* 2011 ; 7 : 611-26.

Hernandez-Ochoa I, Karman BN, Flaws JA. The role of the aryl hydrocarbon receptor in the female reproductive system. *Biochem Pharmacol* 2009 ; 77 : 547-59.

Hoffman CS, Small CM, Blanck HM, *et al*. Endometriosis among women exposed to polybrominated biphenyls. *Ann Epidemiol* 2007 ; 17 : 503-10.

Holloway AC, Stys KA, Foster WG. DDE-induced changes in aromatase activity in endometrial stromal cells in culture. *Endocrine* 2005 ; 27 : 45-50.

Izawa M, Harada T, Taniguchi F, *et al*. An epigenetic disorder may cause aberrant expression of aromatase gene in endometriotic stromal cells. *Fertil Steril* 2008 ; 89 : 1390-6.

Koninckx PR, Martin DC. Deep endometriosis: a consequence of infiltration or retraction or possibly adenomyosis externa? *Fertil Steril* 1992 ; 58 : 924-8.

Lai Z-Z, Yang H-L, Ha S-Y, *et al*. Cyclooxygenase-2 in endometriosis. *Int J Biol Sci* 2019 ; 15 : 2783-97.

Lebel G, Dodin S, Ayotte P, *et al*. Organochlorine exposure and the risk of endometriosis. *Fertil Steril* 1998 ; 69 : 221-8.

Li AJ, Chen Z, Lin T-C, *et al*. Association of urinary metabolites of organophosphate and pyrethroid insecticides, and phenoxy herbicides with endometriosis. *Environ Int* 2020 ; 136 : 105456.

Lushchak OV, Kubrak OI, Storey JM, *et al*. Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. *Chemosphere* 2009 ; 76 : 932-7.

Matta K, Vigneau E, Cariou V, *et al*. Associations between persistent organic pollutants and endometriosis: A multipollutant assessment using machine learning algorithms. *Environ Pollut* 2020 ; 260 : 114066.

Mayani A, Barel S, Soback S, *et al*. Dioxin concentrations in women with endometriosis. *Hum Reprod* 1997 ; 12 : 373-5.

Medina-Díaz IM, Ponce-Ruiz N, Ramírez-Chávez B, *et al*. Downregulation of human paraoxonase 1 (PON1) by organophosphate pesticides in HepG2 cells. *Environ Toxicol* 2017 ; 32 : 490-500.

Moen MH, Magnus P. The familial risk of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993 ; 72 : 560-4.

Niskar AS, Needham LL, Rubin C, *et al*. Serum dioxins, polychlorinated biphenyls, and endometriosis: a case-control study in Atlanta. *Chemosphere* 2009 ; 74 : 944-9.

Nisolle M, Alvarez M-L, Colombo M, *et al*. Pathogenèse de l'endométriose. *Gynecol Obstet Fertil* 2007 ; 35 : 898-903.

Noble LS, Simpson ER, Johns A, *et al*. Aromatase expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 ; 81 : 174-9.

Ozkan S, Murk W, Arici A. Endometriosis and infertility: epidemiology and evidence-based treatments. *Ann N Y Acad Sci* 2008 ; 1127 : 92-100.

Painter JN, Anderson CA, Nyholt DR, *et al*. Genome-wide association study identifies a locus at 7p15.2 associated with endometriosis. *Nat Genet* 2010 ; 43 : 51-4.

Patel BG, Rudnicki M, Yu J, *et al.* Progesterone resistance in endometriosis: origins, consequences and interventions. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2017 ; 96 : 623-32.

Pierre S, Chevallier A, Teixeira-Clerc F, *et al.* Aryl hydrocarbon receptor-dependent induction of liver fibrosis by dioxin. *Toxicol Sci* 2014 ; 137 : 114-24.

Ploteau S, Cano-Sancho G, Volteau C, *et al.* Associations between internal exposure levels of persistent organic pollutants in adipose tissue and deep infiltrating endometriosis with or without concurrent ovarian endometrioma. *Environ Int* 2017 ; 108 : 195-203.

Ploteau S. *Etude du lien entre l'exposition aux polluants organiques persistants et l'endométriose :* École nationale vétérinaire. Nantes. Thèse de doctorat Santé publique, 2016.

Porpora MG, Medda E, Abballe A, *et al.* Endometriosis and organochlorinated environmental pollutants: a case-control study on Italian women of reproductive age. *Environ Health Perspect* 2009 ; 117 : 1070-5.

Porpora MG, Ingelido AM, Di Domenico A, *et al.* Increased levels of polychlorobiphenyls in Italian women with endometriosis. *Chemosphere* 2006 ; 63 : 1361-7.

Pupo-Nogueira A, Oliveira RM de, Petta CA, *et al.* Vascular endothelial growth factor concentrations in the serum and peritoneal fluid of women with endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2007 ; 99 : 33-7.

Quaranta MG, Porpora MG, Mattioli B, *et al.* Impaired NK-cell-mediated cytotoxic activity and cytokine production in patients with endometriosis: a possible role for PCBs and DDE. *Life Sci* 2006 ; 79 : 491-8.

Riccio LDGC, Santulli P, Marcellin L, *et al.* Immunology of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2018 ; 50 : 39-49.

Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, *et al.* Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 716-20.

Salata IM, Stojanovic N, Cajdler-Luba A, *et al.* Gelatinase A (MM-2), gelatinase B (MMP-9) and their inhibitors (TIMP 1, TIMP-2) in serum of women with endometriosis: Significant correlation between MMP-2, MMP-9 and their inhibitors without difference in levels of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in relation to the severity of endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 2008 ; 24 : 326-30.

Sapkota Y, Steinthorsdottir V, Morris AP, *et al.* Meta-analysis identifies five novel loci associated with endometriosis highlighting key genes involved in hormone metabolism. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 15539.

Shafrir AL, Farland LV, Shah DK, *et al.* Risk for and consequences of endometriosis: A critical epidemiologic review. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2018 ; 51 : 1-15.

Simsa P, Mihalyi A, Schoeters G, *et al.* Increased exposure to dioxin-like compounds is associated with endometriosis in a case-control study in women. *Reprod Biomed Online* 2010 ; 20 : 681-8.

Symons LK, Miller JE, Kay VR, *et al.* The immunopathophysiology of endometriosis. *Trends Mol Med* 2018 ; 24 : 748-62.

Trabert B, Peters U, de Roos AJ, *et al.* Diet and risk of endometriosis in a population-based case-control study. *Br J Nutr* 2011 ; 105 : 459-67.

Tsukino H, Hanaoka T, Sasaki H, *et al.* Associations between serum levels of selected organochlorine compounds and endometriosis in infertile Japanese women. *Environ Res* 2005 ; 99 : 118-25.

Turkyilmaz E, Yildirim M, Cendek BD, *et al.* Evaluation of oxidative stress markers and intra-extracellular antioxidant activities in patients with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2016 ; 199 : 164-8.

Ulukus M, Ulukus EC, Tavmergen Goker EN, *et al.* Expression of interleukin-8 and monocyte chemotactic protein 1 in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2009 ; 91 : 687-93.

Uno S, Zembutsu H, Hirasawa A, *et al.* A genome-wide association study identifies genetic variants in the CDKN2BAS locus associated with endometriosis in Japanese. *Nat Genet* 2010 ; 42 : 707-10.

Upson K, de Roos AJ, Thompson ML, *et al.* Organochlorine pesticides and risk of endometriosis: findings from a population-based case-control study. *Environ Health Perspect* 2013 ; 121 : 1319-24.

Varma R, Rollason T, Gupta JK, *et al.* Endometriosis and the neoplastic process. *Reproduction* 2004 ; 127 : 293-304.

Vassilopoulou L, Matalliotakis M, Zervou MI, *et al.* Defining the genetic profile of endometriosis. *Exp Ther Med* 2019 ; 17 : 3267-81.

Verit FF, Erel O, Celik N. Serum paraoxonase-1 activity in women with endometriosis and its relationship with the stage of the disease. *Hum Reprod* 2008 ; 23 : 100-4.

von Theobald P, Cottenet J, Iacobelli S, *et al.* Epidemiology of endometriosis in France: a large, nation-wide study based on hospital discharge data. *Biomed Res Int* 2016 ; 2016 : 3260952.

Walsh LP, McCormick C, Martin C, *et al.* Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ Health Perspect* 2000 ; 108 : 769-76.

Wen X, Xiong Y, Qu X, *et al.* The risk of endometriosis after exposure to endocrine-disrupting chemicals: a meta-analysis of 30 epidemiology studies. *Gynecol Endocrinol* 2019 ; 35(8) : 645-50.

Wu Y, Starzinski-Powitz A, Guo S-W. Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, attenuates invasiveness and reactivates E-cadherin expression in immortalized endometriotic cells. *Reproductive Sciences* 2007 ; 14 : 374-82.

Wu Y, Halverson G, Basir Z, *et al.* Aberrant methylation at HOXA10 may be responsible for its aberrant expression in the endometrium of patients with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 2005 ; 193 : 371-80.

Xue Q, Lin Z, Cheng Y-H, *et al*. Promoter methylation regulates estrogen receptor 2 in human endometrium and endometriosis. *Biology of Reproduction* 2007a ; 77 : 681-7.

Xue Q, Lin Z, Yin P, *et al*. Transcriptional activation of steroidogenic factor-1 by hypomethylation of the 5' CpG island in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007b ; 92 : 3261-7.

Zondervan KT, Becker CM, Missmer SA. Endometriosis. *N Engl J Med* 2020 ; 382 : 1244-56.

Zondervan KT, Becker CM, Koga K, *et al*. Endometriosis. *Nat Rev Dis Primers* 2018 ; 4 : 9.

IV

Focus sur des substances actives

19
Glyphosate et formulations à base de glyphosate

Préambule

Le glyphosate a été synthétisé en 1950 en tant que composé pharmaceutique potentiel (IARC, 2017). Les propriétés herbicides du glyphosate ont été découvertes par la société Monsanto en 1970 et la première formulation commerciale contenant du glyphosate a été mise sur le marché en 1974 sous l'appellation Roundup (Farmer, 2010). Ce produit a bénéficié d'une autorisation de mise sur le marché en 1975 en France sous le n° AMM 7400057 (Anses, 2019a). La protection par brevet a expiré en dehors des États-Unis en 1991, et aux États-Unis en 2000 (Székács et Darvas, 2012). Depuis, le glyphosate et les formulations à base de glyphosate (*glyphosate-based herbicides ; GBH*) sont commercialisés par de nombreuses autres sociétés.

Le glyphosate est un herbicide total, foliaire et systémique, ce qui signifie *i*) qu'il est efficace sur pratiquement toutes les adventices (également désignées par « mauvaises herbes ») annuelles ou vivaces et qu'il n'est pas sélectif des cultures, *ii*) qu'il est absorbé par les feuilles et *iii*) qu'après absorption il est véhiculé par la sève à travers toute la plante (les feuilles, la tige, jusqu'à l'extrémité des racines et des rhizomes) (ACTA, 2019).

Le glyphosate entre dans la composition de plusieurs centaines de préparations commerciales à usage herbicide. Les produits formulés se présentent le plus souvent sous forme de concentré soluble qui est généralement dilué entre 1 et 3 % en milieu aqueux avant épandage. Une formulation « représentative » utilisée par les agences chargées de l'évaluation des risques sanitaires, le *Roundup Ultra*, présente la composition partielle suivante : sel isopropylammonium de glyphosate 485 g/l (équivalent à 360 g/l de glyphosate comme principe actif[75]) et le polyoxyéthylène amine (POEA ; à 16 %) comme surfactant.

75. Les concentrations du glyphosate sont indiquées dans ce texte en mg/l d'équivalent acide pour faciliter l'interprétation des résultats, avec une correspondance de 5,9 µM équivalent à 1 mg/l.

L'analyse du potentiel cancérogène du glyphosate a généré en 2015 une différence d'interprétation entre le Centre international de recherche sur le cancer (Circ) et l'Autorité européenne de sécurité des aliments (*European Food Safety Authority* ; Efsa). Le Circ a classé le glyphosate en catégorie 2A comme « cancérogène probable » (IARC, 2017), alors que l'évaluation par des agences européennes, coordonnée par l'Institut fédéral allemand d'évaluation des risques (*Bundesinstitut für Risikobewertung* ; BfR) a conclu à une absence de classement (BfR, 2015a), conclusion reprise par l'Efsa et l'Agence européenne des produits chimiques (*European Chemicals Agency* ; Echa). Des agences extérieures à l'Union européenne ont partagé l'avis de l'Efsa : le *Joint Meeting on Pesticide Residues* (JMPR) de l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture des Nations Unies et de l'Organisation mondiale de la santé, l'autorité australienne pour les pesticides et la médecine vétérinaire, l'agence néo-zélandaise de protection de l'environnement, l'agence canadienne de réglementation de la lutte antiparasitaire et l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA). En France, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a conclu en 2016 que :

- le niveau de preuve de cancérogénicité chez l'animal et chez l'être humain était considéré comme relativement limité et ne permettait pas de proposer un classement 1A ou 1B (cancérogène avéré ou présumé pour l'être humain) dans le cadre de l'application des critères du règlement (CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et mélanges (*Classification, Labelling and Packaging of substances and mixtures* ; CLP) ;
- au vu du niveau de preuve limité, la classification en catégorie 2 (substances suspectées d'être cancérogènes pour l'être humain) peut se discuter, sans que l'Agence ne puisse se prononcer en l'absence d'une analyse détaillée de l'ensemble des études.

L'Anses a donc, en juillet 2019, établi un cahier des charges pour la réalisation d'études complémentaires sur le potentiel génotoxique du glyphosate sur la base du test des comètes *in vivo*.

Cet écart dans l'évaluation du potentiel cancérogène du glyphosate entre les agences d'évaluation des risques sanitaires et le Circ repose, notamment, sur les aspects suivants :

- une disparité entre les bases de données avec un corpus de données réglementaires non connues du Circ et réciproquement des articles scientifiques non intégrés dans la base de données du BfR ;
- une différence sur les critères d'interprétation des résultats des études toxicologiques (*in vivo* et *in vitro*) et prise en compte de modèles (huître, moule,

poisson, reptile, ver de terre) par le Circ généralement non pris en compte par les agences ;

• une différence sur l'objectif (force de l'évidence et mécanismes d'action pour le Circ *versus* évaluation du risque pour le BfR). Par exemple, l'induction d'un stress oxydatif et la positivité de tests de cancérogenèse chez les rongeurs ont été pris en compte par le Circ pour aboutir au classement 2A.

L'objectif de cette expertise collective n'a pas pour vocation d'analyser les différents facteurs impliqués dans cette controverse qui a généré de nombreuses publications tant dans les revues scientifiques (Portier et coll., 2016 ; Mesnage et Antoniou, 2017 ; Tarazona et coll., 2017 ; Benbrook, 2018 ; Clausing et coll., 2018 ; Douwes et coll., 2018 ; Tarone, 2018) que les médias.

Ce chapitre a pour objectif de présenter et analyser les données d'expologie disponibles sur le glyphosate (utilisation, contamination des milieux et de la population), les données d'épidémiologie publiées depuis 2013 et les mécanismes d'action toxiques du glyphosate et des GBH sur la base de la littérature récente.

Utilisation, contamination des milieux, et biosurveillance

Le glyphosate est probablement l'herbicide le plus utilisé dans le monde (Benbrook, 2016). Il a été enregistré dans plus de 130 pays en 2010 avec une production mondiale annuelle de matière active estimée à environ 600 000 tonnes de substances actives en 2008, 650 000 en 2011 et 720 000 en 2012 (IARC, 2017). Avec l'arrivée dans les années 1990 de plantes génétiquement modifiées (OGM) résistantes à cet herbicide (les plantes *« Roundup Ready »* non cultivées en France), principalement maïs, soja et coton, une forte augmentation mondiale de l'utilisation du glyphosate a été constatée (Beckert et coll., 2011). Ainsi, sa consommation mondiale passe de 56 000 tonnes en 1994 à plus de 820 000 tonnes en 2014 (tableau 19.I), avec un usage principalement agricole (76 % du volume en 1994 et 90 % en 2014).

Tableau 19.I : Utilisation mondiale du glyphosate dans les milieux agricoles et non agricoles entre 1994 et 2014

	1994	1995	2000	2005	2010	2012	2014
Glyphosate (kg x 1 000)	56 296	67 078	193 485	402 350	652 486	718 600	825 804
Agricole	42 868	51 078	155 367	339 790	578 124	648 638	746 580
Non agricole	13 428	16 000	38 118	62 560	74 362	69 962	79 224
Part agricole (%)	76	76	80	84	89	90	90
Part non agricole (%)	24	24	20	16	11	10	10

Quantités de substance active, données de Benbrook, 2016.

Utilisation en France

Comme l'ensemble des produits phytopharmaceutiques de synthèse, le glyphosate est interdit dans les espaces publics en France depuis le 1er janvier 2017 et, depuis le 1er janvier 2019, sa vente est interdite aux particuliers. En octobre 2020, l'Anses annonce que l'utilisation du glyphosate sera interdite en agriculture pour les situations où ce traitement peut être substitué par une solution non chimique (labour, désherbage manuel ou mécanique, etc.). Par ailleurs, les doses homologuées seront réduites pour certains usages (viticulture, arboriculture fruitière, grandes cultures et forêt). Ces décisions ont pour objectif de limiter la quantité de glyphosate utilisée en agriculture en 2021, l'interdiction de ce pesticide ayant été annoncée par le Gouvernement à l'horizon 2023.

En France, en mars 2018, 75 préparations commerciales contenant du glyphosate disposaient d'une AMM en tant que produits phytopharmaceutiques (Anses, 2019b). En décembre 2019, en France, l'Anses a notifié le retrait des autorisations de 36 produits à base de glyphosate et le refus d'autoriser 4 nouveaux produits. Ces produits représentaient en 2018 près des trois quarts des tonnages de produits à base de glyphosate vendus en France, pour des usages agricoles et non agricoles[76].

En France, comme dans la plupart des pays européens, le glyphosate n'est pas utilisé sur les cultures en place mais pour préparer le terrain avant leur implantation. Il est donc préférentiellement utilisé entre deux cultures agricoles soit pour la destruction des repousses de la culture précédente soit pour désherber la parcelle restée nue et envahie par les « mauvaises herbes ». Le glyphosate est aussi utilisé, dans une moindre mesure, en agriculture pour le désherbage des bords de parcelle, des chemins ou des bâtiments. L'Inra a mené des recherches dans l'objectif de proposer des alternatives à l'usage du glyphosate (Reboud et coll., 2017). Une dépendance au glyphosate a été mise en lumière selon les systèmes agricoles. Par exemple, les systèmes suivants ont montré une forte dépendance au glyphosate : grandes cultures peu diversifiées et sur de grandes surfaces, fruits et légumes de plein champ, betteraves. De même, des systèmes très dépendants voire inféodés au glyphosate ont été mis en évidence : l'agriculture de conservation, c'est-à-dire sans travail du sol (sans labour, et donc sans destruction mécanique des mauvaises herbes), représentant 3 à 4 % des surfaces agricoles, la production de noisettes (environ 200 producteurs et 10 tonnes de glyphosate utilisées pour cet

76. Publié le 9/12/2109 sur le site de l'Anses :
https://www.anses.fr/fr/content/l%E2%80%99anses-annonce-le-retrait-de-36-produits-%C3%A0-base-de-glyphosate [consulté le 6 janvier 2020].

usage en 2017), le rouissage du lin (les tiges de lin sont laissées à décomposer au champ par les microorganismes présents afin de ne récolter ensuite que la fibre, ce qui interdit tout travail du sol ; la France est le premier producteur mondial de lin textile), les vignes en terrain difficile (pente ou cailloux, rendant peu praticable le désherbage mécanique : Banyuls, Maury, Côte-Rôtie, Condrieu, soit environ 3 000 ha), la canne à sucre.

Comme le souligne l'Inra (Reboud et coll., 2017), le glyphosate est un herbicide plébiscité par la profession agricole grâce à son large spectre d'efficacité, son faible coût et sa facilité d'utilisation. Son utilisation a eu plusieurs conséquences : en permettant de meilleurs débits de chantiers, il a permis d'étendre les surfaces cultivées par exploitation, l'arrêt des labours a fait évoluer le parc d'agroéquipements, certaines cultures ont pu être implantées sur des terrains peu propices...

Entre 2009 et 2017, le glyphosate est l'herbicide le plus utilisé en France et, selon les années, la première (ou la deuxième) substance active phytopharmaceutique (Anses, 2019b). La figure 19.1 montre l'évolution des ventes de glyphosate entre 2009 et 2017. Au cours de cette période, les quantités annuelles vendues passent de 6 421 tonnes (en 2009) à 10 070 tonnes (en 2014) (Reboud et coll., 2017 ; Anses, 2019b). Une partie de ces quantités est vendue sous forme de produits commerciaux autorisés pour le grand public (les non-professionnels) : entre 13,9 % (2017) et 23,7 % (2013).

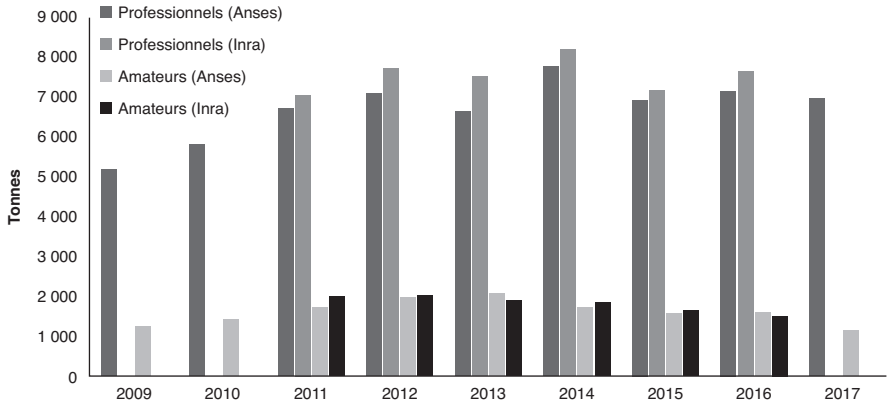


Figure 19.1 : Quantités de glyphosate vendues (en tonnes de substance active) pour des usages professionnels ou amateurs (non-professionnels et grand public) entre 2009 et 2017 (d'après Anses, 2019b et Reboud et coll., 2017)

Si les quantités de glyphosate vendues annuellement au niveau national entre 2009 et 2017 n'évoluent que modestement, les ventes au niveau départemental varient fortement et de manière très hétérogène. Ainsi, selon l'Inra (Reboud et coll., 2017), entre 2012 et 2016 les ventes nationales augmentent de 1,4 % (8 980 à 9 110 tonnes) alors que dans 10 départements la quantité de glyphosate vendue par hectare de surface agricole utile augmente de plus de 75 %. Les auteurs de l'étude expliquent ces variations par la destruction de prairies permanentes au Nord et l'implantation de nouveaux vergers et vignes au Sud.

Le ministère de l'agriculture mène régulièrement des enquêtes sur les pratiques culturales des agriculteurs[77]. Il s'agit d'enquêtes par échantillonnage de parcelles agricoles sur certaines cultures d'intérêt, réalisées à différents intervalles de temps. L'exploitation des données issues de ces enquêtes a été réalisée par l'Anses (Anses, 2019b). Il en ressort que, sur les grandes cultures en 2014, la part des superficies traitées au moins une fois par du glyphosate a été de 55,1 % pour la canne à sucre, 29 % pour le tournesol, 21,8 % pour le pois protéagineux, 18,9 % pour le colza, 16,8 % pour l'orge, 13,3 % pour le blé tendre, 12,9 % pour le maïs grain, 11,9 % pour le triticale, 10,7 % pour le blé dur, 10,6 % pour le maïs fourrage, 10,3 % pour la betterave sucrière et 5,9 % pour la pomme de terre. Pour la viticulture en 2013-2014, la part des surfaces traitées au moins une fois est estimée à 72,3 %. Pour l'arboriculture en 2012, cette part est de 60,6 % pour la prune, 49,4 % pour la pomme et 44,9 % pour la cerise. Enfin, concernant le maraîchage en 2013, cette part est de 10,1 % pour les carottes et de 9,2 % pour les melons, les autres cultures maraichères étudiées étant moins concernées (moins de 3,6 % des surfaces traitées). Notons, à la lumière de ces résultats, que les cultures pérennes sont de fortes utilisatrices de glyphosate. Concernant les grandes cultures, le glyphosate est généralement utilisé en interculture, c'est-à-dire entre deux successions de cultures. L'Inra (Reboud et coll., 2017) souligne que l'utilisation de glyphosate est sensiblement plus fréquente sur les parcelles recevant des successions de colza et céréales à paille, ou de tournesol et céréales à paille et que, compte tenu des variations d'assolement, l'utilisation du glyphosate varie d'une région à l'autre. Les systèmes de cultures mis en place dans l'agriculture française ont pour conséquence un besoin important de désherbage des parcelles. Celui-ci est réalisé préférentiellement de manière chimique (limitant le besoin en machine et en main d'œuvre) et à base de glyphosate car il s'agit d'un herbicide efficace et d'un coût relativement modéré.

77. Agreste – La statistique, l'évaluation et la prospective agricole. http://agreste.agriculture.gouv.fr/enquetes/pratiques-culturales/ [consulté le 6 janvier 2020].

Contamination des milieux et des denrées

Le glyphosate est une molécule très polaire, insoluble dans les solvants organiques et amphotère (à la fois une base et un acide) (figure 19.2). Appartenant à la famille des aminophosphonates, il est présent sous forme de sels glyphosate-isopropylammonium, glyphosate-potassium, glyphosate-monoammonium, glyphosate-diméthylammonium selon les nombreuses formulations commerciales.

Comme la plupart des pesticides, des résidus de glyphosate sont présents dans les différents compartiments environnementaux (l'air, le sol, l'eau, les denrées alimentaires) qui peuvent être des sources d'exposition pour la population générale.

Le glyphosate est rapidement et fortement adsorbé dans les sols (notamment ceux qui sont à pH acide, riche en minéraux ou faible en phosphate) où il est métabolisé et rendu inactif par les organismes microbiens (Mamy, 2004). La dégradation du glyphosate conduit à la formation de plusieurs métabolites. La voie de dégradation principale (99 %) implique l'activité de l'enzyme glyphosate oxydoréductase qui décompose le glyphosate en amino-méthyl-phosphonique (l'AMPA, figure 19.2) et en acide glyoxylique qui sont finalement minéralisés en CO_2 et en phosphate inorganique. L'AMPA est également produit par des plantes résistantes au glyphosate exprimant cette même enzyme et peut aussi provenir de la dégradation des phosphonates présents notamment dans les détergents. Une moindre proportion de glyphosate est dégradée par d'autres bactéries en N-méthyl-glycine (sarcosine), en glycine et finalement en CO_2.

Une étude récente des terres arables en Europe a montré que le glyphosate et l'AMPA sont présents dans presque la moitié de plus de 300 échantillons testés à des concentrations supérieures à 0,05 mg/kg (Silva et coll., 2018). En France, les concentrations médianes du glyphosate et de l'AMPA dans les sols provenant de dix régions agricoles étaient respectivement 0,08 et 0,13 mg/kg. L'AMPA est plus persistant dans les sols que son composé parent, avec une demi-vie qui varie considérablement selon le degré d'adsorption et de dégradation (de quelques jours à quelques années) (Efsa, 2015a ; ATSDR, 2019).

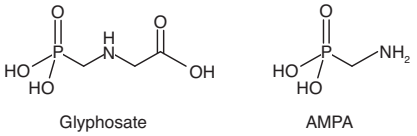


Figure 19.2 : Formules chimiques du glyphosate et de son métabolite, l'acide aminométhylphosphonique (AMPA)

Le glyphosate est représenté sous sa forme acide ; le groupement phosphate peut être anionique et former des sels avec des cations (potassium, monoammonium...).

Techniques de dosage

Les caractéristiques physicochimiques du glyphosate rendent délicates les procédures analytiques quantitatives et exigent des méthodologies rigoureuses et validées d'autant que d'autres métabolites secondaires peuvent se former (suite à des N-acétylations). Des procédures robustes d'extraction et de purification poussée sont nécessaires pour éviter, entre autres, des effets de matrice (influence de l'environnement du produit analysé).

Différentes méthodes de dosages ont été rapportées pour la quantification du glyphosate dans l'eau, les céréales et autres aliments, les sols... Ces méthodes utilisent en grande majorité une détection par spectrométrie de masse (MS) avec comme première étape, un traitement des échantillons, adapté à chacune des matrices considérées (eau, aliments...). Pour répondre à la question de l'exposition, la technique de dosage doit être assez sensible pour suivre des variations de concentration de glyphosate en fonction de la dose ou du temps. Les caractéristiques des dosages correspondent à la justesse (absence de biais), la fidélité (répétabilité, reproductibilité intra- et inter-laboratoires) et la quantification (limite de détection, limite de quantification et linéarité du modèle) (Anses, 2015). Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont des valeurs systématiquement rapportées dans les dossiers de validation. Des réglementations, lignes directrices ou normes proposent des méthodes d'estimation de la LOD. Ces méthodes ont pour objectif de déterminer la limite en dessous de laquelle l'analyte est considéré comme « non détecté ». Généralement, la LOQ représente la plus faible concentration dans un échantillon qui puisse être quantifiée avec une fidélité et une justesse acceptables dans des conditions expérimentales indiquées.

Le dosage du glyphosate dans les urines est communément réalisé pour mesurer les expositions de diverses populations ; il repose sur des méthodes soit de chimie analytique soit d'immunologie, alors que celles-ci ont été en première intention développées pour le suivi de la contamination des eaux, sols et denrées alimentaires. L'Efsa a proposé que la somme des concentrations de glyphosate, AMPA, N-acétyl AMPA et N-acétyl glyphosate soit utilisée pour une évaluation du risque, ce qui oriente préférentiellement vers des méthodes de dosage en chimie analytique car une détection reposant sur des anticorps peut être plus délicate du fait de la diversité des métabolites formés (Efsa, 2019a). Pour le dosage du glyphosate en chimie analytique, les techniques de détection incluent l'électrophorèse capillaire (Lanaro et coll., 2015), la chromatographie liquide et détection en fluorescence (Wang et coll., 2016) et la chromatographie liquide et spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) actuellement la méthode la plus utilisée (Bernal et coll., 2012 ; Liao et coll., 2018). Comme le glyphosate est hautement

hydrophile, non volatile, de faible masse molaire et sans groupe chromophore[78], il est difficile à analyser par HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance) avec une détection UV ou en fluorescence ou bien en GC (chromatographie en phase gazeuse)-MS sans une étape préalable de dérivation (Yoshioka et coll., 2011). Il s'agit alors de greffer un agent chromophore facilitant une séparation soit par chromatographie gazeuse soit par chromatographie liquide tout en sachant que chacune de ces procédures présente des contraintes spécifiques à prendre en considération. L'étape de dérivation est généralement conduite avec le 9-fluorenylméthyl chloroformate afin d'obtenir un temps de rétention acceptable dans les colonnes de chromatographie (Botero-Coy et coll., 2013). Les analystes ont récemment développé des méthodes en spectrométrie de masse (MS ou MS/MS) avec électrospray et proposé plusieurs méthodes de dosage en LC-MS/MS adaptées à différentes matrices (Martins-Junior et coll., 2009). De nombreux articles rendent compte de dosages en détection par MS sur des échantillons d'eau et d'aliments et seulement quelques articles rapportent celui-ci dans des fluides biologiques comme les urines. Les échantillons urinaires sont généralement traités par une solution aqueuse acide (0,1 % acide formique). Les dosages urinaires du glyphosate et de l'AMPA ont été réalisés en LC-MS/MS avec l'ajout de standards internes marqués (0,05 mg/ml $D_2{}^{13}C^{15}N$-AMPA et $^{13}C3^{15}N$-glyphosate). Selon cette méthode la linéarité de dosage est obtenue de 0,05 à 1 000 µg/l avec une valeur de LOQ de 0,1 µg/l (Jensen et coll., 2016). La LOD pour le glyphosate est établie à 0,05 µg/l basée sur un rapport signal : bruit supérieur à 3 : 1. Il faut noter que la linéarité du dosage peut être obtenue sur un intervalle plus important de concentration, entre 0,1 et 10 µg/l (Conrad et coll., 2017).

La technique de dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* ; ELISA) est une méthode utilisée en routine pour le dosage de pesticides dans diverses matrices avec une faible réactivité croisée pour d'autres substances (Byer et coll., 2011). Un test ELISA largement utilisé pour doser le glyphosate, commercialisé par la société Eurofins-Abraxis, repose sur une compétition entre le glyphosate présent dans l'échantillon et un complexe glyphosate-enzyme vis-à-vis de la liaison avec un anticorps polyclonal anti-glyphosate révélé par un dérivé coloré. L'échelle de quantification d'un échantillon dans l'eau est de 0,075 à 4 µg/l. Les réactions croisées vis-à-vis de l'AMPA ou du glufosinate sont faibles de l'ordre de < 0,1 %.

78. Un chromophore est un groupe d'atomes comportant une ou plusieurs doubles liaisons, formant une séquence de doubles liaisons conjuguées avec le reste de la molécule, ce qui lui confère généralement une couleur facilement analysable.

La technique LC-MS/MS permet de quantifier le glyphosate et l'AMPA et sa sensibilité est supérieure à celle du test ELISA (LOD = 0,025 µg/l *versus* 0,1 µg/l) (Byer et coll., 2008). Cependant, il existe une forte corrélation entre les résultats produits par ces deux techniques (R^2 = 0,88), bien que la méthode ELISA tende à surestimer la concentration de glyphosate. Cette surestimation peut reposer sur une interférence avec des ions, des sels et/ou des phosphates (Clegg et coll., 1999). La technique ELISA a été comparée à la technique de dosage en GC/MS et un coefficient de corrélation de 0,87 a été estimé pour les urines (Krüger et coll., 2014). Le dosage dans l'eau de glyphosate par technique HPLC a été comparé à une technique ELISA de première génération (Rubio et coll., 2003). Pour le test immunologique, la LOD était de 1 µg/l voire 0,1 µg/l si une étape préalable de dérivation était réalisée. L'interférence avec le glufosinate ou l'AMPA était très faible avec une réactivité croisée < 0,01 %. Pour la méthode HPLC, la LOD était de 50 µg/l. Plus récemment, le test ELISA d'Eurofins-Abraxis a été utilisé pour le suivi de la contamination des eaux fluviales, de boissons et des urines d'agriculteurs exposés au glyphosate (Rendon-von Osten et Dzul-Caamal, 2017). Pour un dosage du glyphosate dans l'eau, la valeur de la LOQ était de 0,13 µg/l et la concentration maximale détectable de 4 µg/l.

En résumé, la sensibilité pour le glyphosate est similaire entre les deux méthodes de dosage avec un effet faible de réaction croisée dû à la matrice. En revanche, la gamme de linéarité du dosage est supérieure pour les techniques analytiques (MS) et elles permettent aussi de doser l'AMPA ce qui n'est pas le cas pour le test ELISA.

Surveillance dans l'air ambiant

Le glyphosate, en raison de sa pression de vapeur négligeable[79] de l'ordre de 9,8 x 10^{-8} à 1,94 x 10^{-7} mmHg n'est pas susceptible de se volatiliser à partir des surfaces traitées et sa présence dans l'atmosphère est liée à la dérive des gouttelettes de pulvérisation. L'Anses a recensé l'ensemble des mesures effectuées par les Associations agréées de surveillance de la qualité de l'air (AASQA) disponibles entre 2012 et 2015 (Anses, 2019b). Aucune AASQA n'a analysé le glyphosate dans l'air ambiant. Cependant, selon une étude réalisée en région PACA, sur 83 analyses effectuées entre 2015 et 2016, le glyphosate a été détecté 5 fois, soit un taux de détection de 7 %. Sur les 4 sites de mesures, 3 ont détecté du glyphosate dans l'air au moins une fois. Les prélèvements ont été effectués pendant 24 h avec un débit de 30 m^3/h et les concentrations en glyphosate variaient entre 0,18 et 1,04 ng/m^3 (Ravier

79. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glyphosate [consulté le 6 janvier 2020].

et coll., 2019). La surveillance des pesticides dans l'air n'est pas réglementée et ces concentrations sont actuellement difficilement interprétables.

Surveillance dans le milieu aquatique

La réglementation sur la qualité de l'eau est issue de la directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000. Elle établit un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau[80]. Ainsi, en France, un programme de surveillance de la qualité de l'eau a été mis en place pour les différentes catégories d'eau (eaux douces de surface, eaux souterraines, eaux côtières et de transition). Pour les cours d'eau et les canaux, le réseau de contrôle de surveillance est constitué de 1 500 sites pérennes « cours d'eau » répartis sur le territoire (métropole), auxquels se rajoutent les sites pour les canaux, les sites internationaux, ainsi que les sites pour les départements ultramarins[81]. Les eaux souterraines sont surveillées par 2 356 stations (en 2015)[82]. Le choix des sites est réalisé de manière à fournir une image cohérente et globale de l'état chimique des eaux souterraines et à fournir des données de contrôle représentatives[83]. Il en est de même pour les eaux de surface. Les mesures de contamination par les pesticides ne sont pas identiques pour toutes les stations. Si certains pesticides doivent systématiquement être étudiés (atrazine, diuron...), d'autres en revanche, comme le glyphosate et son métabolite l'AMPA, ne peuvent être recherchés que sur une partie des stations (mais sur au moins 25 % d'entre elles). Les recherches des différents pesticides sont surtout liées au contexte local et au risque potentiel de contamination du milieu. Les toutes premières données disponibles concernant le glyphosate[84] datent de juillet 2000. Sur l'ensemble de l'année 2000, 117 stations ont analysé le glyphosate. Elles étaient 2 038 en 2010 et 3 272 en 2018.

Le glyphosate sous sa forme acide (N-(phosphonométhyl)glycine) est relativement peu soluble dans l'eau (10,5 g/l à 20 °C, pH = 1,9). Il est utilisé généralement sous forme de sel afin d'augmenter considérablement sa solubilité (< 1 kg/l pour le sel d'isopropylamine), avec comme conséquence la possibilité d'une contamination des milieux aquatiques. Le milieu aquatique

80. Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
81. Circulaire du 13 juillet 2006 relative à la constitution et la mise en œuvre du programme de surveillance pour les eaux douces de surface en application de la directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000 du Parlement et du Conseil établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
82. Système d'information sur l'eau, SIE. Disponible sur www.eaufrance.fr
83. Directive n° 2006/118/CE du 12/12/06 sur la protection des eaux souterraines contre la pollution et la détérioration.
84. Système d'information sur l'eau, SIE. Disponibles sur www.naiades.eaufrance.fr

est le compartiment de l'environnement le plus surveillé pour ce qui est de la contamination par les pesticides. Il bénéficie de normes réglementaires et de plans de surveillance nombreux et réguliers[85]. L'arrêté du 11/01/2007 (relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique), fixe : i) pour les pesticides dans les eaux brutes de toute origine, utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine, une norme de 0,5 µg/l pour chaque pesticide pris individuellement et de 2 µg/l pour la somme de tous les pesticides individualisés détectés et quantifiés (ainsi que leurs métabolites) ; ii) pour les pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine une norme de 0,1 µg/l pour chaque pesticide pris individuellement et de 0,5 µg/l pour la somme de tous les pesticides individualisés détectés et quantifiés (ainsi que leurs métabolites). Ces valeurs sont valables pour le glyphosate. Seuls 4 pesticides font l'objet de normes plus sévères à 0,03 µg/l : l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore et l'époxyde d'heptachlore. Ces normes, en vigueur dans l'Union européenne[86], ont été fixées sur la base des limites analytiques de détection à l'époque où elles ont été établies et ne correspondent, en aucun cas, à des valeurs sanitaires de référence. De ce fait, elles ne peuvent être comparées – d'un point de vue de risque sanitaire – à des concentrations constatées dans d'autres milieux ou matrices biologiques (par exemple les urines). Les valeurs limites du glyphosate dans l'eau potable au Canada[87] et aux États-Unis[88] sont plus élevées, soit respectivement de 280 et 700 µg/l.

Concernant les eaux de surface, l'Anses (Anses, 2019b) a comparé les données issues des plans de surveillance à la norme de qualité environnementale[89] qui est fixée à 28 µg/l pour le glyphosate et à 452 µg/l pour son

85. Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
86. Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.
87. https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/guidelines-canadian-drinking-water-quality-guideline-technical-document-glyphosate.html [consulté le 6 janvier 2020].
88. https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations [consulté le 6 janvier 2020].
89. Les normes de qualité environnementales (NQE) sont utilisées pour déterminer des valeurs limites de concentrations moyennes annuelles pour protéger les organismes d'une possible exposition prolongée aux polluants dans les milieux aquatiques. La NQE pour les eaux douces non destinées à la production d'eau potable est déterminée en appliquant un facteur de sécurité sur la plus faible dose avec un effet toxique aigu. L'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) indique pour le glyphosate une NQE de 28 µg/l, calculée à partir de la NOEC (*No Observed Effect Concentration*) chez une diatomée (https://substances.ineris.fr/fr/substance/cas/1071-83-6/3 [consulté le 10 janvier 2020]). Pour l'AMPA, la NQE est 452 µg/l, calculée à partir de l'EC_{50} chez une algue verte.
https://substances.ineris.fr/fr/substance/cas/1066-51-9/3 [consulté le 10 janvier 2020].

métabolite l'AMPA. En métropole, entre 2007 et 2017, le glyphosate a été recherché dans 36,7 % (2007) à 94,7 % (2017) des points de mesure pour lesquels au moins un pesticide a été recherché. Le glyphosate a été quantifié dans 22,2 % (2007) à 49,7 % (2017) de ces points. Un seul point, en 2014, présente une moyenne annuelle des concentrations de glyphosate (70,2 µg/l) supérieure à la norme de qualité pour les eaux de surface. Notons que le taux de quantification[90] augmente régulièrement entre 2007 et 2017 mais que parallèlement les limites de quantification s'améliorent au cours de cette période. Il n'est donc pas possible de relier directement l'augmentation du taux de quantification à une augmentation de la contamination du milieu par le glyphosate sans connaître les valeurs individuelles des dosages. Concernant l'AMPA, le taux de recherche parmi les points de mesure est similaire. Il est quantifié dans 43,1 % (2007) à 74,4 % (2017) de ces points et aucun dépassement des normes n'est noté. Dans les départements et régions d'Outre-mer (DROM), le glyphosate est recherché dans 44,6 % (2007) à 100 % (2011) des points de mesure. Il est quantifié dans 2,1 % (2008) à 16 % (2007) des cas et aucun point ne présente de moyenne annuelle supérieure à la norme. Concernant l'AMPA, le taux de recherche varie de 41,9 % (2007) à 100 % (2011), le taux de quantification de 9,2 % à 28 % (2013) et aucune non-conformité n'est constatée.

Concernant les eaux souterraines, les données présentées par l'Anses (Anses, 2019b) sont comparées à la norme de 0,1 µg/l, soit celle de l'eau destinée à la consommation humaine. En métropole entre 2007 et 2017, le glyphosate est quantifié dans 0,5 % (2009) à 3,4 % (2017) des analyses effectuées et la moyenne annuelle des concentrations est supérieure à la limite de 0,1 µg/l pour 0,4 % (2012) à 1,5 % (2007) des points de mesure. Concernant l'AMPA, la quantification concerne 0,8 % (2009) à 4,7 % (2012) des analyses effectuées et le dépassement de la norme est constaté pour 0,5 % (2013/2014/2016) à 1,4 % (2012) des points de mesure. Dans les DROM, le glyphosate est quantifié dans 0 % (2010 à 2014) à 4,2 % (2007) des analyses et la norme est dépassée pour 0 % (2010 à 2014) à 7,4 % (2007) des points de mesures.

Concernant les eaux destinées à la consommation humaine, le taux de non-conformité (> 0,1 µg/l) varie de 0,05 % (2017) à 0,26 % (2007) pour le glyphosate et de 0,04 % (2017) à 0,29 % (2011) pour l'AMPA. Aucune mesure ne dépasse la valeur de référence dérivée des valeurs toxicologiques (soit un seuil sanitaire) qui est fixée à 900 µg/l pour la somme des concentrations en glyphosate et AMPA (Afssa, 2007).

90. Le nombre d'analyses sur lesquelles le pesticide concerné a été quantifié rapporté à l'ensemble des analyses de ce paramètre.

En résumé, le glyphosate et l'AMPA sont présents dans l'ensemble des compartiments aquatiques, de manière plus importante dans les eaux de surface et dans une moindre mesure dans les eaux souterraines et l'eau destinée à la consommation humaine. Ainsi, dans les eaux de surface, le Commissariat général au développement durable (2015) notait qu'entre 2009 et 2013 les concentrations totales les plus importantes retrouvées étaient pour les herbicides, le glyphosate et l'AMPA, puis l'atrazine, le métolachlore, le S-métolachlore, le chlortoluron, l'isoproturon, le bentazone et leurs produits de dégradation ; pour les fongicides, le boscalide ; et pour les insecticides, l'imidaclopride. Aucun dépassement du seuil d'écotoxicité n'est observé pour le glyphosate et l'AMPA. Alors que dans les eaux souterraines, les substances les plus répandues, certaines interdites depuis au moins une décennie, sous leur forme d'origine ou partiellement dégradée étaient : l'atrazine (atrazine éthyl présente dans plus de 51 % des points de mesures en 2017), le diméthachlore, le métolachlore, le métazachlore, la simazine, le bentazone, l'oxadixyl, l'alachlore, le chlortoluron et le glyphosate (ministère de la Transition écologique et solidaire, 2019).

Surveillance dans les denrées alimentaires

Le glyphosate et son métabolite l'AMPA sont des contaminants retrouvés dans les produits alimentaires, des produits agricoles bruts ou des produits transformés. Des limites maximales de résidus (LMR) pour ces composés sont fixées par réglementation, qui diffèrent selon les denrées. Pour les denrées alimentaires humaines, les LMR sont de 0,05 mg/kg pour le lait, les œufs et la viande, 0,1 mg/kg pour la plupart des plantes à usage alimentaire et 10 à 20 mg/kg pour les graines, tandis que pour les fourrages d'animaux, elles sont de l'ordre de 500 mg/kg. Ces valeurs sont issues des bonnes pratiques agricoles et n'ont pas été fixées comme une limite au-delà de laquelle on observerait un effet toxique chez l'être humain. Elles sont a priori conservatrices et bien inférieures à celles correspondant à une exposition inductrice de toxicité.

Le glyphosate a été trouvé, à l'état de traces, comme un contaminant d'un maïs génétiquement modifié pour être tolérant au glyphosate (variété NK603 cultivée au Canada) qui était traité ou non avec l'herbicide (16 µg/kg pour le maïs traité) (Chereau et coll., 2018). En revanche, pour le soja transgénique, la contamination par le glyphosate et l'AMPA est retrouvée avec une valeur de l'ordre de 10 mg/kg alors qu'il n'est pas détectable dans le soja issu d'agriculture biologique (Bohn et coll., 2014).

Le rapport de 2017 de l'Union européenne sur les résidus de pesticides dans les aliments présente les résultats issus de l'ensemble des États membres ainsi que de l'Islande et la Norvège soit 88 247 échantillons (Efsa, 2019b). Le

glyphosate a été analysé en 2017 par 25 pays sur 8 672 échantillons ; 71 d'entre eux étaient des échantillons d'aliments pour bébés et 306 des échantillons d'aliments d'origine animale (y compris le miel). Dans 97,5 % des échantillons, le glyphosate n'était pas quantifié. Dans 2,2 % des échantillons (191 échantillons), le glyphosate a été quantifié à des niveaux supérieurs à la limite de quantification, mais inférieurs à la LMR et dans seulement 21 échantillons (0,2 %), les concentrations de résidus ont dépassé la LMR. Les résidus de glyphosate n'ont été détectés dans aucun des échantillons d'aliments pour bébés. Des dépassements de LMR ont été identifiés dans des échantillons provenant d'Allemagne (7 échantillons de miel), d'Italie (1 échantillon d'asperges et 1 échantillon de seigle), de Pologne (1 échantillon de sarrasin et 1 échantillon de poires), d'Autriche (1 échantillon de miel), de France (1 échantillon de riz) et 8 échantillons d'origine inconnue (5 de seigle et 3 de sarrasin).

Toxicocinétique humaine

Peu d'études permettent de décrire avec précision les données toxicocinétiques du glyphosate chez l'être humain. L'absorption cutanée est considérée comme la principale voie d'exposition aux pesticides chez les professionnels (Lavy et coll., 1992 ; Connolly et coll., 2019a). Les études chez le singe ont montré que l'absorption cutanée, tant pour le Roundup concentré que pour une dose diluée correspondant à un usage agricole, est de 2,2 % pour la plus forte concentration testée (270 µg/cm^2). Pour les études *in vitro* menées sur des échantillons de peau humaine, un taux inférieur à 2 % est constaté après 16 h de contact (Wester et coll., 1991). L'exposition par inhalation est considérée comme une voie d'exposition mineure (Jauhiainen et coll., 1991 ; Johnson et coll., 2005 ; IARC, 2017).

Dans le profil toxicologique du glyphosate, l'Agence pour le registre des substances toxiques et maladies (ATSDR) des États-Unis ne recense aucune donnée humaine ou animale concernant la distribution du glyphosate après contamination par inhalation (ATSDR, 2019). Des données humaines limitées ont été trouvées concernant la distribution du glyphosate après absorption par voie orale. La détection de glyphosate dans des échantillons de sérum et/ou d'urine d'individus qui avaient ingéré – intentionnellement ou non – des produits contenant du glyphosate confirme l'absorption par le tractus gastro-intestinal (Hori et coll., 2003 ; Sribanditmongkol et coll., 2012 ; Zouaoui et coll., 2013). Le taux d'absorption du glyphosate dans le cas d'ingestion par voie orale, estimé à partir des données sur les rats, est de l'ordre de 20 à 30 % (ATSDR, 2019). Récemment, des études ont été

réalisées chez des hommes volontaires ayant consommé un repas dont le contenu en glyphosate était connu (Zoller et coll., 2020) ou ingéré du glyphosate dissous dans de l'eau à une concentration connue (Faniband et coll., 2021). Ces deux études montrent que les quantités excrétées de glyphosate dans les urines représentent entre 1 et 6 % de la dose ingérée. Concernant le métabolite AMPA, il ne représente qu'entre 0,01 et 0,3 % de la dose ingérée en glyphosate sur une base molaire. Ces observations conduisent à penser raisonnablement que le taux d'absorption du glyphosate dans le tractus gastro-intestinal chez l'être humain est bien inférieur à celui observé chez le rat. Après son absorption, le glyphosate est facilement distribué par le sang sans accumulation significative dans aucun tissu particulier.

Le glyphosate ne subit pas de métabolisation significative chez l'être humain ou les rongeurs et seule une fraction réduite (< 1 %) est métabolisée en AMPA (ATSDR, 2019). Les travaux récents de Zoller et coll. (2020) et Faniband et coll. (2021) confirment cette très faible métabolisation du glyphosate chez l'être humain. Des résultats d'études animales identifient les matières fécales et l'urine comme les principales voies d'élimination du glyphosate ; les quantités urinaires excrétées reflétant la quantité de glyphosate absorbée et les quantités fécales reflétant la quantité de glyphosate non absorbée après l'exposition par voie orale (ATSDR, 2019). Le Circ a estimé la demi-vie sérique de glyphosate chez le rat exposé par voie orale à 33 h (IARC, 2017), alors que la demi-vie retenue par Roberts et coll. est de 3 à 4 h pour l'élimination du glyphosate du sang de patients qui avaient intentionnellement ingéré des quantités importantes de produits contenant du glyphosate (Roberts et coll., 2010). Dans d'autres cas d'empoisonnement, les concentrations plasmatiques de glyphosate ont chuté rapidement (en 2 à 3 jours) après le début de l'observation (Talbot et coll., 1991). Connolly et coll. ont récemment rapporté une demi-vie moyenne du glyphosate comprise entre 5 h 30 et 10 h, selon que les concentrations sont ou non corrigées par la créatinine ou tiennent compte du taux d'excrétion urinaire (Connolly et coll., 2019b).

Biosurveillance

L'estimation des niveaux d'imprégnation au glyphosate de la population générale et des professionnels agricoles entre dans le champ de la biosurveillance. Une étude de biosurveillance implique la quantification d'un agent chimique ou d'un biomarqueur dans un compartiment biologique (sang, urine, sueur, cheveu, lait, cordon ombilical...) avec pour objectif d'évaluer l'exposition à cet agent. Le développement de méthodes de biosurveillance

implique une stratégie de prélèvement et de conservation de l'échantillon, de prise en compte de la toxicocinétique du produit avec ses variations inter-espèces et de sélection de la matrice (sang, urine...) (Barr et coll., 2006).

Le glyphosate absorbé par voie orale est essentiellement excrété inchangé dans les urines, ce qui valide la quantification de ce pesticide dans les urines pour l'évaluation d'une exposition récente en comparaison d'autres matrices (sang, salive...) (Curwin et coll., 2006). Les urines sont donc considérées comme la meilleure matrice pour des études de biosurveillance (Acquavella et coll., 2004 ; Curwin et coll., 2006 ; Krüger et coll., 2014 ; Niemann et coll., 2015). Les recommandations sont d'ajuster la concentration urinaire des agents chimiques à la créatinine dans le cas d'une étude d'exposition environnementale (Barr et coll., 2005). Idéalement, les urines de 24 h devraient être collectées dans une étude de biosurveillance, mais la demi-vie d'élimination du glyphosate[91] permet d'estimer l'exposition récente au glyphosate à l'aide d'un recueil d'échantillons par spot au cours d'une journée (Connolly et coll., 2018 ; Connolly et coll., 2019b).

En France, peu d'études fournissent des données de biosurveillance sur l'exposition au glyphosate. Les pesticides les plus souvent mesurés sont ceux de la famille des organochlorés, des organophosphorés, des pyréthrinoïdes ou des triazines (Chevrier et coll., 2011 ; Fréry et coll., 2013 ; Dereumeaux et coll., 2016).

La cohorte PELAGIE a été mise en place en Bretagne entre 2002 et 2006 pour étudier l'impact de contaminants de l'environnement sur le développement intra-utérin et de l'enfant (Chevrier et coll., 2009). Une étude exploratoire de mesures urinaires prénatales d'herbicides (par chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse triple quadripole ; LOQ = 50 ng/l) a été réalisée chez 47 femmes de la cohorte en début de grossesse ayant déclaré avoir utilisé des herbicides sur les pelouses ou sur les allées de leur habitation. Le glyphosate a été quantifié chez 43 % des femmes à un taux médian de 0,20 µg/l, et l'AMPA chez 36 % des femmes à un taux médian de 0,31 µg/l (Vandentorren et Guldner, 2013 ; Anses, 2019b). Les auteurs soulignent qu'aucun facteur lié aux modes d'usage de désherbant (fréquence, forme du produit...) n'apparaît déterminant du taux de détection ou du niveau urinaire de cette exposition.

Santé publique France met en œuvre un Programme national de biosurveillance décliné en deux volets complémentaires, dont un volet périnatal (Dereumeaux et coll., 2016). Ce dernier concerne 4 145 femmes enceintes

91. Le temps nécessaire pour que la concentration sanguine de glyphosate dans l'organisme diminue de moitié lors de sa phase d'élimination.

ayant accouché en France en 2011 et participant à la cohorte ELFE (Vandentorren et coll., 2009 ; Pirus et coll., 2010) avec la mesure urinaire de 130 biomarqueurs d'exposition (dont des pesticides) dans des échantillons d'urine. Le glyphosate a été mesuré par LC-MS/MS (LOD = 15 ng/l ; LOQ = 50 ng/l) dans les urines de 1 036 femmes collectées au moment de l'admission à la maternité. Les quantifications de celui-ci et de son métabolite sont rares : 0,3 % des échantillons avaient un taux de glyphosate au-dessus de la LOQ et 0,1 % pour l'AMPA.

Au niveau européen, depuis les débats concernant le glyphosate, la mesure de cette substance est intégrée dans les dosages urinaires de xénobiotiques dans les programmes de biosurveillance, et en particulier dans le programme européen de biosurveillance HBM4EU[92].

Au niveau international, une revue de la littérature récente a recensé les études documentant les niveaux d'exposition chez les travailleurs (8 études) et en population générale (14 études) (Gillezeau et coll., 2019). Parmi la population professionnelle, les sujets étaient soit des forestiers (Jauhiainen et coll., 1991), soit des horticulteurs (Connolly et coll., 2017 ; Connolly et coll., 2018), soit des agriculteurs et leur famille (Acquavella et coll., 2004 ; Curwin et coll., 2006 ; Mesnage et coll., 2012 ; Jayasumana et coll., 2015b ; Rendon-von Osten et Dzul-Caamal, 2017). Une étude complémentaire a été ajoutée ultérieurement (Perry et coll., 2019) portant le total à 9 études. Les mesures ont toutes été réalisées à partir d'échantillons d'urines sur un total de 423 sujets dont 73 conjointes et 148 enfants. Les études ont été réalisées aux États-Unis (n = 3), en Irlande (n = 2) en Finlande (n = 1), en France (n = 1), au Mexique (n = 1) et au Sri Lanka (n = 1). Les dosages urinaires du glyphosate varient de 0,26 µg/l à 73,5 µg/l. Ils sont difficilement comparables car les tâches et les moments des prélèvements sont assez hétérogènes. Ces résultats n'apportent qu'une information limitée sur les variations des niveaux d'imprégnation au cours du temps. Concernant l'étude française recensée (Mesnage et coll., 2012), les résultats concernent 5 personnes : un agriculteur, sa conjointe et leurs 3 enfants. Les concentrations de glyphosate mesurées chez le travailleur atteignent 9,5 µg/l après l'épandage de glyphosate et 2 µg/l deux jours après. Cette revue de la littérature recense également 14 études réalisées en population générale, totalisant un effectif de 3 298 sujets. Les matrices biologiques sont l'urine (n = 11), le lait maternel et l'urine (n = 1), le sang ombilical et maternel (n = 2). Les femmes enceintes font l'objet de quatre études. Les dosages urinaires varient de 0,16 µg/l à 7,6 µg/l.

92. https://www.hbm4eu.eu [consulté le 6 janvier 2020].

Une autre revue de la littérature datant de 2015 (Niemann et coll., 2015) rapporte les résultats de 7 études en Europe et aux États-Unis documentant le niveau d'exposition au glyphosate dans les urines. Dans ces études réalisées aux États-Unis, la concentration urinaire moyenne est de 2 à 3 µg/l avec d'importantes variations dont un maximum à 233 µg/l, alors qu'elle est de 1 µg/l en moyenne avec un maximum de 5 µg/l dans les études réalisées en Europe. Les auteurs ont comparé les niveaux de contamination à certaines valeurs de référence et concluent que les estimations de l'exposition sont de niveau inférieur à la dose journalière admissible (DJA ; la quantité qui peut théoriquement être ingérée quotidiennement sans risque pour la santé) et au niveau d'exposition acceptable pour l'opérateur (*Acceptable Operator Exposure Level*) et que les travailleurs ou les consommateurs n'étaient pas exposés à des niveaux susceptibles d'entraîner des risques sanitaires.

Une concentration de l'ordre du µg/l d'urine pourrait-elle néanmoins être associée à un potentiel effet toxique ? Pour répondre à cette question, il est nécessaire de calculer la concentration de glyphosate dans les urines pour une personne exposée à la dose maximale sans effet toxique. Chez l'être humain, la DJA suite à une exposition par voie orale est actuellement fixée à 0,5 mg/kg pc/j (Efsa, 2015a ; maintenue en 2018). Cette valeur est calculée sur la base de la dose sans effet nocif *(Non Observed Adverse Effect Level ; NOAEL)* établie à 50 mg/kg pc/j à partir d'études chez le rat et le lapin. En effet, la DJA est obtenue en divisant la NOAEL par un facteur de sécurité égal à 100, correspondant aux incertitudes inter (10) et intra espèce (10) (qui sont donc multipliées, 10 x 10 = 100). Ainsi, pour une personne d'un poids corporel de 60 kg, présentant un taux d'absorption de 20 % du glyphosate (Niemann et coll., 2015) et une élimination rapide urinaire avec un volume d'urine de 1,5 à 2,0 l/j, le calcul aboutit à : 0,5 x 60 x 0,2/ 1,5 à 2 = 3,0 à 4,0 mg/l de glyphosate dans les urines de 24 h (ou 3 000 à 4 000 µg/l). Cette valeur est bien supérieure (3 000 à 4 000 fois) à celle retrouvée dans les urines qui est de l'ordre de 1 µg/l d'urine pour la population générale en Europe. Même si la valeur de la DJA est sous-estimée d'un facteur 10, le facteur de sécurité serait égal à 300-400 ce qui est en faveur, en l'état actuel des connaissances et des méthodes expérimentales utilisées, d'une absence de risque. Par ailleurs, d'après des analyses de dosages urinaires chez des travailleurs exposés, l'exposition correspondait en moyenne à 0,4 % de la DJA avec un maximum de 2 %, soit en moyenne 2 µg/kg/j (Niemann et coll., 2015). Les travaux récents montrant que l'absorption intestinale du glyphosate serait inférieure (1 à 6 %, Zoller et coll., 2020 ; Faniband et coll., 2021) à celle estimée initialement (20 à 30 %, ATSDR, 2019) ne modifient pas la DJA, dans la mesure où celle-ci est construite en étudiant le lien entre la dose externe et la survenue d'un effet toxique.

Les études de biosurveillance décrites ci-dessus renseignent sur les niveaux d'imprégnation au glyphosate et ses métabolites. L'interprétation des données expérimentales repose sur des considérations pratiques et théoriques (variabilités interindividuelles, chronicité de l'exposition, effets des mélanges, différences intra-espèces) et on ne peut exclure, sur la base de ces études, que l'exposition au glyphosate ne présente aucun risque pour l'être humain. Cela souligne l'importance d'évaluer les risques potentiels pour la santé de l'exposition au glyphosate à travers des études épidémiologiques qui sont examinées ci-dessous.

Données épidémiologiques

Les études épidémiologiques portant sur l'exposition au glyphosate concernent plusieurs pathologies cancéreuses, comme les cancers solides ou hématologiques (en particulier les lymphomes non hodgkiniens ; LNH), ainsi que des pathologies non cancéreuses comme des pathologies respiratoires, la maladie de Parkinson, des troubles endocriniens, des troubles anxio-dépressifs et des troubles du développement.

Si les agences réglementaires évaluent la toxicité pour l'être humain et l'environnement de matières actives comme le glyphosate, les organismes vivants ne sont pas exposés qu'à celles-ci mais également aux coformulants. Cette remarque est aussi valable pour la très grande majorité des pesticides qui sont présents sous forme de mélanges contenant des adjuvants de diverses natures. Bien que peu d'études épidémiologiques sur le glyphosate aient pris en compte les formulations, elles permettent néanmoins d'apporter des arguments sur les risques sanitaires potentiellement associés à l'exposition professionnelle ou environnementale au glyphosate.

Lymphomes non hodgkiniens

Données provenant de l'expertise collective de 2013

Lors de l'expertise collective sur les pesticides réalisée par l'Inserm en 2013 (Inserm, 2013), le glyphosate était associé à un excès de risque significatif de LNH avec une présomption faible ou moyenne selon les populations exposées (agriculteurs, exposition professionnelle englobant toute catégorie d'emploi : applicateurs, éleveurs). Il en était de même de l'association glyphosate et malathion (tableau 19.II).

Tableau 19.II : Exposition au glyphosate et survenue de LNH : expertise collective de 2013

	Aminophosphonate glycine	Populations exposées Présomption d'un lien
Glyphosate	Agriculteurs Exposition professionnelle	± +
Glyphosate + malathion	Exposition professionnelle	±

+ d'après quatre études cas-témoins

± d'après les résultats d'une cohorte (agriculteurs) ou une étude cas-témoins (glyphosate + malathion)

Le point de la littérature en 2013 montrait une hétérogénéité des résultats entre les études de cohorte et de cas-témoins : il n'y avait pas d'association entre l'exposition au glyphosate et le risque de LNH dans l'étude de cohorte AHS (*Agricultural Health Study*) aux États-Unis, ce qui contrastait avec les résultats des études cas-témoins en particulier celles menées aux États-Unis, au Canada et en Suède. Dans ces études, des augmentations significatives de risque de LNH étaient observées et persistaient après ajustement sur l'exposition aux autres pesticides mais reposaient sur des effectifs faibles. Une des études cas-témoins (Eriksson et coll., 2008) avait rapporté une association statistiquement significative avec certains sous-types de lymphomes à cellules B comme le lymphome lymphocytique/leucémie lymphoïde chronique. Une étude cas-témoins menée au Canada avait montré que l'exposition au glyphosate seul n'augmentait pas le risque de LNH alors que son utilisation en combinaison avec le malathion induisait une augmentation significative du risque (OR = 2,10 ; IC 95 % [1,31-3,37]) (Hohenadel et coll., 2011).

Nouvelles données

- ***Méta-analyses***

Une revue systématique de la littérature accompagnée d'une méta-analyse basée sur 44 articles originaux a évalué les associations entre le LNH et l'exposition à 21 familles de pesticides et 80 substances actives, dont le glyphosate (Schinasi et Leon, 2014). Le risque de LNH était associé positivement à l'exposition professionnelle au glyphosate (mRR = 1,5 ; IC 95 % [1,1-2,0]), résultat observé à partir d'études publiées antérieurement et déjà prises en compte dans la précédente expertise collective (cinq études cas-témoins et la cohorte AHS dans son analyse publiée en 2005). L'association était renforcée lorsqu'on considérait le lien entre l'exposition au glyphosate et les lymphomes à cellules B (mRR = 2,0 ; IC 95 % [1,1-3,6]) sans hétérogénéité entre les résultats des études.

Une méta-analyse des cohortes d'agriculteurs, récemment publiée par le consortium Agricoh (Leon et coll., 2019) étudiait le rôle de l'exposition (de

façon binaire : oui/non) entre 14 familles de pesticides et 33 substances actives dont le glyphosate et le risque de LNH et de ses principaux sous-types. Ce travail reposait sur les données de trois cohortes de travailleurs agricoles : AHS (États-Unis), AGRICAN (France) et CNAP (Norvège), totalisant plus de 300 000 sujets, 2 430 cas et 3,5 millions de personnes-années à risque. Parmi les associations testées, peu apparaissaient significatives mais une association positive statistiquement significative était observée entre l'exposition au glyphosate et le risque de lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB, l'un des sous-types de LNH le plus fréquent), après ajustement sur les autres pesticides (mRR = 1,4 ; IC 95 % [1,0-1,9]). Aucune hétérogénéité entre les résultats des trois cohortes n'est objectivée. Cette élévation statistiquement significative du risque reposait principalement sur les données de la cohorte norvégienne (CNAP) avec un risque de LDGCB associé à l'exposition au glyphosate RR = 1,7 ; IC 95 % [1,1-2,7] (100 cas exposés), tandis que les risques étaient légèrement élevés mais non significatifs dans les cohortes américaine (AHS) et française (AGRICAN) avec respectivement : RR = 1,2 ; IC 95 % [0,7-2,0] (93 cas exposés) et RR = 1,1 ; IC 95 % [0,5-2,2] (28 cas exposés). Le glyphosate était utilisé respectivement par 38 %, 83 % et 36 % des agriculteurs et ouvriers agricoles des cohortes CNAP, AHS et AGRICAN.

Entre 2013 et 2019, deux autres méta-analyses (Chang et Delzell, 2016 ; Zhang et coll., 2019) et une analyse « poolée » (Pahwa et coll., 2019) ont étudié la relation entre une exposition professionnelle au glyphosate et le risque de LNH en agrégeant les mêmes études que Schinasi et Leon (2014). Les méta-analyses reposaient sur les mêmes cinq études cas-témoins antérieurement publiées (entre 2001 et 2009) et les données de la cohorte AHS. L'étude de Zhang et coll. a inclus l'analyse la plus récente de la cohorte AHS publiée en 2018 (Andreotti et coll., 2018), tandis que celle de Chang et Delzell était basée sur une analyse de l'AHS publiée en 2005 (de Roos et coll., 2005). La première méta-analyse (Chang et Delzell, 2016), mettait en évidence un risque augmenté de LNH statistiquement significatif chez les agriculteurs exposés au glyphosate mRR = 1,3 ; IC 95 % [1,0-1,6] avec peu d'hétérogénéité dans les résultats des études (I^2 = 0 %) et pas de biais de publication détecté. Cette association était robuste à plusieurs analyses secondaires selon la méthode statistique, la permutation des résultats par ceux d'une analyse plus récente, ou les deux à la fois. La seconde méta-analyse (Zhang et coll., 2019) se concentrait sur les sujets les plus exposés au glyphosate (en durée et en intensité) et rapportait un risque légèrement plus élevé : mOR = 1,4 ; IC 95 % [1,1-1,8]. Une analyse complémentaire à partir des données de l'AHS de 2005 et des groupes les plus fortement exposés montrait un risque de LNH comparable : mOR = 1,5 ; IC 95 % [1,1-1,9].

Plusieurs analyses de sensibilité utilisant différentes catégorisations de l'exposition, selon les sous-types de LNH inclus, le lieu géographique de l'étude, l'exposition à d'autres pesticides, le type d'analyse statistique, ou l'exclusion tour à tour d'une des six études, ont retrouvé des risques comparables. Au total, cette dernière étude rapporte un risque légèrement plus élevé que les deux autres méta-analyses (Schinasi et Leon, 2014 ; Chang et Delzell, 2016). Cette étude est la seule à aborder l'analyse des groupes les plus exposés au glyphosate. Une autre différence notable est l'inclusion des cas de myélome multiple dans le groupe des LNH dans la dernière version de l'analyse de l'AHS (conformément à la classification OMS et à une publication du consortium *InterLymph* qui placent ces hémopathies malignes dans le groupe des hémopathies lymphoïdes à cellules B matures car dérivant d'une prolifération monoclonale de plasmocytes). Cependant, une analyse de sensibilité montrait que les résultats n'étaient pas expliqués par la prise en compte des myélomes. En effet, une association entre le myélome multiple et le glyphosate, si elle existait, aurait pu être à l'origine de cette élévation du risque, mais cela n'était pas démontré dans la dernière analyse de la cohorte AHS et repose aujourd'hui sur un faible niveau de preuve. Aucune analyse par sous-type de LNH n'était disponible dans la méta-analyse de Zhang et coll. Les deux seuls résultats allant dans le même sens et étant spécifiques d'un sous-type de lymphome (le LDGCB et plus largement le lymphome B) était donc ceux publiés respectivement par Leon et coll. en 2019 et Schinasi et Leon en 2014, déjà évoqués ci-dessus.

Enfin, une analyse poolée (méta-analyse sur données individuelles) publiée en 2019 examinait le rôle spécifique de l'exposition au glyphosate sur le risque de LNH et ses principaux sous-types (Pahwa et coll., 2019). Elle utilisait les études cas-témoins menées aux États-Unis et au Canada (*North American Pooled Project*), études dont la majorité étaient prises en compte dans les méta-analyses décrites plus haut. Les auteurs montraient que les sujets ayant utilisé du glyphosate avaient un risque augmenté de LNH (OR = 1,4 ; IC 95 % [1,1-1,8]) mais, après ajustement sur l'exposition aux pesticides 2,4-D, dicamba et malathion, le risque était atténué et non significatif (OR = 1,1 ; IC 95 % [0,8-1,5]). Les auteurs faisaient les mêmes observations concernant l'analyse par sous-type de LNH. Cependant, une association positive statistiquement significative avec le risque de LNH était observée chez les sujets du 3^{e} tercile c'est-à-dire ayant utilisé du glyphosate plus de deux jours par an (OR = 1,7 ; IC 95 % [1,0-2,9] ; p de tendance = 0,2) de même que chez les sujets atteints de LDGCB (OR = 2,1 [1,1-4,3] ; p de tendance = 0,2) ce qui était concordant avec les méta-analyses présentées plus haut, en particulier celle de Zhang et coll. Ces risques augmentés n'étaient toutefois pas retrouvés avec la durée de l'exposition en années. La

tendance vie entière était significative uniquement pour le lymphome lymphocytique lorsqu'on analysait la variable d'exposition en continu, alors que le risque était augmenté mais non significatif lorsque l'exposition était étudiée de façon binaire (exposé oui/non).

- ***Cohortes***

L'analyse la plus récente de la cohorte AHS a été publiée de manière isolée (Andreotti et coll., 2018) et portait spécifiquement sur l'exposition au glyphosate en utilisant les données de suivi les plus à jour (extension du suivi de l'incidence des cancers jusqu'en 2012 en Caroline du Nord et jusqu'en 2013 dans l'Iowa avec 7 290 cas de cancer incidents, et incluant des informations supplémentaires sur l'exposition à partir d'un questionnaire de suivi). Cette analyse ne mettait pas en évidence de risque augmenté avec les LNH ou ses principaux sous-types. Les données de la cohorte AHS ont été en 2019 analysées conjointement à celles de deux autres cohortes dans une analyse menée par le consortium Agricoh (voir ci-dessus).

En résumé, des nouvelles données renforcent la présomption d'un lien entre glyphosate et le risque de LNH dans des populations d'agriculteurs (présomption moyenne ; tableau 19.III). Cette conclusion repose d'une part sur la méta-analyse récemment publiée par le consortium de cohortes d'agriculteurs, Agricoh (Leon et coll., 2019) qui, à partir des données des cohortes française et norvégienne (mais pas celles de la cohorte américaine (AHS)) montre une association entre le lymphome diffus à grandes cellules B et l'exposition au glyphosate, et d'autre part, les trois méta-analyses et analyses poolées récentes réalisées à partir d'études plus anciennes montrant systématiquement un risque augmenté (Chang et Delzell, 2016 ; Pahwa et coll., 2019 ; Zhang et coll., 2019) en particulier chez les agriculteurs les plus exposés. Cependant, cette synthèse doit également prendre en compte le fait que plusieurs études dont une cohorte (AHS dans sa dernière analyse réalisée en 2018 et publiée isolément) ne montraient pas d'association et qu'aucun effet dose n'a été mis en évidence. À notre connaissance, aucune donnée supplémentaire n'a été publiée depuis l'expertise collective de 2013 pouvant conforter une augmentation de risque de LNH dans le cas d'exposition combinée au glyphosate et malathion.

Tableau 19.III : Exposition au glyphosate et survenue de LNH : nouvelles données

Aminophosphonate glycine	Populations exposées	Présomption d'un lien
Glyphosate	Agriculteurs, professionnels	+

d'après les résultats de trois méta-analyses (analyses nouvelles mais d'études connues), d'une méta-analyse associant les données de trois cohortes (Agricoh) en plus des quatre études cas-témoins prises en compte en 2013.

Myélome multiple

Historiquement, le myélome multiple a été étudié séparément car c'est une entité reconnue de longue date et considérée comme distincte, c'est pourquoi un chapitre séparé pour cette maladie a été maintenu dans cette mise à jour de l'expertise collective. Pour autant, certaines études récentes se focalisant sur l'effet d'un principe actif de pesticide en particulier, ont regroupé les cas de myélome multiple avec le groupe des LNH comme dans la dernière analyse de la cohorte AHS dans son analyse centrée sur l'exposition au glyphosate (Andreotti et coll., 2018).

Données provenant de l'expertise collective de 2013

Les cohortes de travailleurs exposés principalement à une classe de pesticides ou à un pesticide bien spécifique, sont peu nombreuses. Elles portent généralement sur un nombre de cas très limité ce qui rend extrêmement difficile l'étude de l'existence éventuelle d'une relation entre ce type d'exposition et les myélomes multiples. Les résultats de l'AHS disponibles en 2013 montraient toutefois une tendance à l'augmentation de risque avec certaines intensités d'exposition au glyphosate sans être toutefois statistiquement significative. C'est également le cas de trois études cas-témoins (canadienne, américaine, française) montrant une augmentation non significative de risque chez les sujets les plus fortement exposés sans ajustement sur l'exposition aux autres pesticides.

Nouvelles données

Depuis l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, une méta-analyse a été publiée sur l'exposition au glyphosate (Chang et Delzell, 2016) ainsi qu'une mise à jour récente de la cohorte AHS portant spécifiquement sur cette exposition (Andreotti et coll., 2018).

La méta-analyse sur le glyphosate de Chang et Delzell en 2016 repose sur trois études cas-témoins publiées entre 1993 et 2013 et deux analyses différentes des mêmes données de la cohorte AHS publiées en 2005 (de Roos et coll., 2005) puis en 2015 (Sorahan, 2015). Un risque augmenté de myélome multiple, statistiquement significatif, était observé chez les agriculteurs exposés au glyphosate (mRR = 1,54 ; IC 95 % [1,0-2,19]) en utilisant l'analyse de 2005 de la cohorte AHS et un risque de magnitude comparable (mRR = 1,4 ; IC 95 % [1,0-1,9]), en utilisant l'analyse de Sorahan publiée en 2015. Cette méta-analyse montrait une absence d'hétérogénéité des effets entre les études (I^2 = 0 %) et une absence de biais de publication identifiable. Cette association était robuste à plusieurs autres analyses secondaires.

Une ré-analyse de la cohorte AHS a été publiée seule plus récemment. Elle repose sur les données avec le suivi le plus long (Andreotti et coll., 2018) et s'adresse spécifiquement à l'exposition au glyphosate. Cette dernière ne met pas en évidence d'association avec le myélome multiple.

Au regard de ces résultats, la présomption d'un lien entre le risque de myélome multiple et l'exposition au glyphosate est faible (±). Elle repose sur un faible niveau de preuves : risque élevé mais à la limite de la signification statistique dans une méta-analyse de trois études cas-témoins et une étude de cohorte.

Lymphome de Hodgkin

Depuis la précédente édition de l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, une méta-analyse spécifiquement centrée sur l'exposition au glyphosate a été publiée. De même, une mise à jour de la cohorte AHS a également été publiée sur l'exposition au glyphosate. Aucune information spécifique sur le lien entre glyphosate et le lymphome de Hodgkin n'était présente dans l'édition 2013 de l'expertise collective.

Nouvelles données

Une méta-analyse portant spécifiquement sur le glyphosate, publiée en 2016 (Chang et Delzell, 2016), étudie conjointement deux études cas-témoins publiées entre 2009 et 2012 et ne met pas en évidence d'association entre le risque de lymphome de Hodgkin et l'exposition au glyphosate chez les agriculteurs (mRR = 1,1 ; IC 95 % [0,7-1,6]). Pour autant, les données disponibles reposent sur de faibles effectifs.

La ré-analyse la plus récente de la cohorte AHS (Andreotti et coll., 2018) s'adresse spécifiquement à l'exposition au glyphosate et ne met pas en évidence d'association avec le lymphome de Hodgkin. L'effectif des cas exposés est faible et reflète la relative rareté de la maladie (10 % des lymphomes).

La littérature scientifique publiée depuis 2013 est relativement peu abondante avec trois études dont une méta-analyse (basée sur deux études cas-témoins) et une mise à jour de la cohorte AHS, toutes deux centrées sur l'exposition au glyphosate. Ces études, qui sont basées sur un faible nombre de cas, n'ont pas observé un excès de risque de survenue de lymphome de Hodgkin. Au regard de ces résultats, aucune présomption d'un lien entre le risque de lymphome de Hodgkin et l'exposition au glyphosate n'est mise en évidence.

Leucémies

Lors de l'expertise collective de 2013, une étude de la cohorte AHS a rapporté un risque augmenté non significatif d'association entre l'exposition au glyphosate (tercile intermédiaire uniquement) et le risque de leucémie. Les auteurs de l'étude concluaient à une absence d'association entre exposition au glyphosate et le risque de leucémies.

Depuis 2013, trois méta-analyses ont été publiées dont deux réalisées à partir des données de trois cohortes d'agriculteurs (AHS, AGRICAN, CNAP) et portant sur l'exposition à plusieurs familles de pesticides (El-Zaemey et coll., 2019 ; Leon et coll., 2019), tandis que la troisième portait spécifiquement sur l'exposition au glyphosate à partir de trois études cas-témoins (Chang et Delzell, 2016). Une mise à jour de la cohorte AHS a été publiée et portait spécifiquement sur l'exposition professionnelle au glyphosate. On distinguera les leucémies lymphoïdes (souvent étudiées avec les lymphomes et représentées par l'entité la plus fréquente, la leucémie lymphoïde chronique ; LLC) des leucémies myéloïdes (l'entité étudiée la plus fréquente est la leucémie aiguë myéloïde ; LAM).

- ***Méta-analyses***

Les méta-analyses de cohortes d'agriculteurs du consortium Agricoh ne montraient pas d'association entre l'exposition au glyphosate et la LLC (à noter : aucune analyse n'a concerné le risque de leucémie myéloïde dans ces études) (El-Zaemey et coll., 2019 ; Leon et coll., 2019). Une méta-analyse publiée en 2016 portait spécifiquement sur le glyphosate (Chang et Delzell, 2016). Elle analysait conjointement les données de trois études cas-témoins publiées entre 1990 et 2009 et ne mettait pas en évidence d'association entre le risque de LLC et l'exposition au glyphosate chez les agriculteurs (mRR = 1,0 ; IC 95 % [0,6-1,5]). En revanche, une méta-analyse de deux études évaluant l'association entre l'utilisation de glyphosate et le risque de leucémie à tricholeucocytes montrait un risque augmenté, mais non significatif (mRR = 2,5 ; IC 95 % [0,9-7,3]).

- ***Cohortes***

Une ré-analyse récente de la cohorte AHS a été publiée de manière isolée (Andreotti et coll., 2018) et portait spécifiquement sur l'exposition au glyphosate en utilisant les données de suivi les plus à jour (extension du suivi de l'incidence des cancers jusqu'en 2012 en Caroline du Nord et jusqu'en 2013 en Iowa avec 7 290 cas de cancer incidents, et inclusion des informations supplémentaires sur l'exposition à partir d'un questionnaire de suivi). Cette analyse ne mettait pas en évidence de risque augmenté avec la LLC.

En revanche, le risque de LAM était augmenté parmi les applicateurs classés dans le quartile d'exposition le plus élevé (exposition en nombre de jours évalué sur la vie entière, ajusté sur un score d'intensité d'utilisation) par rapport aux non-utilisateurs (RR = 2,4 ; IC 95 % [0,9-6,3], p de tendance = 0,1), bien que cette association ne soit pas statistiquement significative. Les résultats étaient comparables en appliquant une fenêtre de latence d'exposition de cinq ans (RR 4^{e} quartile = 2,3 ; IC 95 % [1,0-5,5], p de tendance = 0,07) et de 20 ans (RR 3^{e} tercile = 2,0 ; IC 95 % [1,0-4,0], p de tendance = 0,04).

La présomption d'un lien entre l'exposition au glyphosate et la leucémie est faible (±), et repose actuellement uniquement sur les derniers résultats de la cohorte AHS qui devront être confirmés.

Cancers urogénitaux

L'exposition au glyphosate avait fait l'objet d'une analyse lors d'un premier suivi de la cohorte AHS en 2001 portant sur 2 088 cas incidents de cancer de la prostate et aucune association n'avait été observée (de Roos et coll., 2005). Lors d'un suivi ultérieur de la cohorte, jusqu'en 2012 ou 2013, selon l'État de résidence des participants, portant sur 2 844 cas incidents, aucune association n'a été observée avec le risque de survenue de ce cancer (Andreotti et coll., 2018).

De même, au sein de l'AHS, les cancers de la vessie survenus entre l'inclusion dans la cohorte (entre 1993 et 1997) et 2011 ont été étudiés en lien avec l'usage d'une cinquantaine de molécules – dont le glyphosate – recueilli par questionnaire à l'inclusion (Koutros et coll., 2016). L'analyse a permis d'inclure 321 cas de cancer de la vessie chez les hommes (à noter que les femmes ont été exclues de l'analyse car un seul cas a été identifié). Lorsque le nombre de jours d'exposition cumulés au cours de la vie était pris en compte, une augmentation non significative du risque était observée avec le glyphosate (RR = 1,93 ; IC 95 % [0,95-3,91]).

Pathologies respiratoires

Dans l'AHS, la plus grande étude à avoir évalué le lien entre des expositions à des matières actives spécifiques et différents paramètres de la fonction respiratoire, le glyphosate apparaît associé dans plusieurs analyses : *i*) il est associé au risque de sifflements allergiques (OR = 1,56 ; IC 95 % [1,19-2,03]) et non allergiques (OR = 1,24 ; IC 95 % [1,07-1,44]) après ajustement sur

l'indice de masse corporelle (IMC), l'asthme actif, l'âge, le statut tabagique, l'État, la fréquence d'utilisation de pesticides et la fréquence d'utilisation de tracteur diesel chez plus de 22 000 agriculteurs, avec une relation dose-réponse observée pour les sifflements allergiques (Hoppin et coll., 2017) ; *ii*) avec les sifflements chez 2 255 applicateurs industriels dans un modèle ajusté sur l'âge, le statut tabagique, l'asthme/allergie et l'IMC (OR = 1,38 ; IC 95 % [1,03-1,86]), mais une association qui était diminuée et non plus statistiquement significative après inclusion dans le modèle de l'exposition au chlorimuron-éthyle (Hoppin et coll., 2006), et *iii*) avec l'asthme allergique chez les femmes agricultrices dans un modèle ajusté sur l'âge, l'État, le statut tabagique, l'IMC et le fait de « grandir dans une ferme » (OR = 1,31 ; IC 95 % [1,02-1,67]) (Hoppin et coll., 2008).

Quant à l'étude de l'impact de l'exposition aux pesticides sur l'aggravation de l'asthme, une étude transversale portant sur 926 agriculteurs avec un asthme actif dans la cohorte AHS (Henneberger et coll., 2014) a mis en évidence un risque d'exacerbation d'asthme diminué avec l'utilisation de deux herbicides incluant le glyphosate (OR = 0,5 ; IC 95 % [0,3-0,8] dans un modèle ajusté sur âge, État, statut tabagique, allergie, âge de début d'asthme (enfant *versus* adulte)) suggérant un possible biais du travailleur sain (les asthmatiques sujets à des exacerbations pourraient éviter les expositions qui déclenchent les symptômes).

Une étude de Patel et coll. portant sur une population de plus de 11 000 exploitants agricoles, a montré un risque d'asthme actif augmenté avec l'utilisation de pesticides, d'herbicides et d'insecticides sans distinction. Aucune association n'était retrouvée avec les matières actives considérées individuellement, à l'exception d'une association positive proche de la significativité statistique pour le glyphosate (OR = 1,3 ; IC 95 % [0,97-1,8]), après ajustement sur sexe et région (Patel et coll., 2018).

En Colombie, un programme gouvernemental vise à lutter contre la culture illicite de coca par des pulvérisations aériennes d'herbicides (principalement le glyphosate). Sur la base des données de pulvérisation de l'herbicide et de données médico-administratives, une étude a mis en évidence une augmentation statistiquement significative du nombre de consultations médicales pour problèmes respiratoires dans les 15 jours suivant la pulvérisation de pesticides. Cette étude suggère un effet à court terme de cette exposition dans une situation d'usage massif sur la santé respiratoire (Camacho et Mejía, 2017).

En résumé, la présomption d'un lien entre glyphosate et santé respiratoire est faible, avec un nombre limité d'études (la plupart issues de la cohorte

AHS) qui montrent un excès de risque de sifflements (allergiques ou non) et d'asthmes.

Maladie de Parkinson

Deux études, menées dans les États américains de Washington (Caballero et coll., 2018) et Nebraska (Wan et Lin, 2016), ont mis en évidence une augmentation de risque significative pour la maladie de Parkinson et l'exposition environnementale au glyphosate. La première a estimé la relation entre l'exposition aux pesticides au domicile et la mortalité prématurée par la maladie (définie comme < 75 ans) entre 2011 et 2015. Les auteurs ont combiné des données géospatiales d'utilisation des sols et des données d'application de pesticides obtenues par enquête auprès d'agriculteurs pendant cette période pour définir une matrice culture-exposition (Caballero et coll., 2018). Les personnes habitant au moment du décès à moins de 1 000 mètres d'un terrain traité par pesticides étaient considérées exposées. Les auteurs ont sélectionné 4 pesticides : glyphosate, diazinon, atrazine, paraquat. Les analyses ont été ajustées sur le sexe, l'origine ethnique, le statut marital et le niveau d'éducation. Les expositions des décès précoces ($\leq$ 74 ans, n = 659) ont été comparées à celles des décès tardifs ($\geq$ 75 ans, n = 3 932). Aucune association significative n'a été mise en évidence entre l'exposition aux pesticides (tous types confondus) et la mortalité prématurée par maladie de Parkinson (OR = 1,19 ; IC 95 % [0,98-1,44]). L'association était significative pour l'exposition résidentielle au glyphosate (RR = 1,33 ; IC 95 % [1,06-1,67]) mais pas pour les autres pesticides évalués. Des modèles multivariés tenant compte de l'exposition à plusieurs pesticides n'ont pas été réalisés. La principale limite de cette étude est le recours aux certificats de décès pour identifier les cas de maladie de Parkinson, car de manière générale, le diagnostic est indiqué sur les certificats de décès pour seulement environ 50 % des cas (Paulson et Gill, 1995 ; Goldacre et coll., 2010 ; Benito-León et coll., 2014). De plus, la comparaison des taux de décès par âge nécessiterait de prendre en compte des facteurs de confusion (tabagisme, activité physique) dont la fréquence a considérablement changé au cours du temps.

Un registre de population collectant les nouveaux cas de maladie de Parkinson au Nebraska a permis d'identifier 6 557 cas incidents entre 1997 et 2008 et de réaliser une analyse écologique (Wan et Lin, 2016). L'occupation du sol pour 19 cultures agricoles a été déterminée à partir d'images satellites (2005) et 5 d'entre elles ont été retenues car majoritaires dans cet État. L'utilisation de pesticides pour chaque culture a été déterminée à partir de plusieurs types de sources, incluant des données publiques (*US Geological Survey, National*

Center for Food and Agricultural Policy) et des enquêtes auprès d'agriculteurs. Vingt pesticides (15 herbicides, 5 insecticides dont 2 carbamates et 3 organophosphorés), pour lesquels les données étaient considérées suffisamment complètes par les auteurs, ont été retenus pour les analyses. Un système d'information géographique a été utilisé pour ensuite déterminer la distribution spatiale de l'exposition à ces pesticides. Après ajustement sur l'âge, l'incidence de la maladie de Parkinson dans les comtés de l'État n'était pas associée à l'exposition aux pesticides. Toutefois, après exclusion du groupe de référence des comtés qui présentaient l'incidence la plus élevée de maladie de Parkinson et étaient caractérisés par une faible exposition aux pesticides, l'incidence était plus élevée dans les comtés fortement exposés à l'atrazine, le bromoxynil, l'alachlore, la métribuzine et le glyphosate. Dans un modèle multi-ajusté qui prenait en compte les cinq produits et la densité des cultures, seul l'alachlore était associé significativement à l'incidence de la maladie de Parkinson. L'analyse écologique au niveau des comtés, qui sont des unités géographiques de relativement grande taille, et l'absence d'ajustement sur des facteurs de confusion autres que l'âge, sont des limites de cette étude. Les relations mises en évidence n'apparaissaient qu'après exclusion *a posteriori* des comtés qui présentaient l'incidence la plus élevée et qui d'après les auteurs sont des comtés caractérisés par une forte présence d'élevage mais pas d'autres cultures. Toutefois, l'incidence élevée dans ces comtés demeure inexpliquée.

Dans une étude publiée en 2007 à partir des données de l'AHS (Kamel et coll., 2007), les auteurs ont identifié, à partir d'un diagnostic auto-déclaré de maladie de Parkinson, 83 cas prévalents à l'inclusion (1993-1997) et 78 cas incidents à la fin du suivi (1999-2003). Leur diagnostic n'avait pas été validé par un examen neurologique standardisé. L'exposition professionnelle des cas a été comparée à celle des participants sans maladie de Parkinson (79 557 à l'inclusion et 55 931 à la fin du suivi). Les auteurs ont étudié l'exposition à 43 pesticides spécifiques dont le glyphosate ; il n'existait pas d'association entre cette molécule et la maladie de Parkinson prévalente (OR = 1,0 ; IC 95 % [0,6-1,7]) ou incidente (OR = 1,1 ; IC 95 % [0,6-2,0]).

En France, une étude cas-témoins (224 cas dont 118 hommes, 557 témoins dont 291 hommes), a été réalisée auprès des affiliés de la Mutualité sociale agricole (Elbaz et coll., 2009). L'exposition professionnelle aux pesticides a été évaluée en utilisant une procédure en deux étapes : entretiens avec des médecins du travail puis expertise au cas par cas des questionnaires d'exposition. L'association entre 29 familles de pesticides et la maladie de Parkinson a été évaluée, en particulier pour le glyphosate qui était le seul pesticide inclus dans la famille des herbicides organophosphorés ; il n'existait pas d'association significative chez les hommes (OR = 1,5 ; IC 95 % [0,8-2,7]).

En résumé, deux études écologiques s'intéressent à la maladie de Parkinson et à son lien avec l'exposition résidentielle au glyphosate. L'une conclut à un excès de risque et l'autre, après ajustement à d'autres pesticides, à une absence de risque. La nature écologique de ces études ne permet pas d'inférer un lien de causalité. Deux études sur l'exposition professionnelle au glyphosate n'ont pas rapporté d'association significative.

Troubles anxio-dépressifs

Une association a été mise en évidence entre les symptômes dépressifs et l'exposition aux pesticides chez 220 travailleurs agricoles d'une région à forte activité agricole caféière au Brésil (Conti et coll., 2018). L'exposition aux pesticides (sans distinction de familles chimiques ou de matières actives) était associée à un risque multiplié par 5 de présenter un score élevé de symptômes dépressifs (OR = 5,5 ; IC 95 % [1,2-25,9]). Par contre, l'exposition spécifique au glyphosate (concernant 38,6 % des travailleurs) n'était pas associée au risque de développer des symptômes dépressifs.

Une étude cas-témoins en France a évalué de manière transversale le lien entre les pesticides et l'existence d'une dépression auto-déclarée et traitée ou prise en charge à l'hôpital (Weisskopf et coll., 2013). Seuls les individus ayant travaillé en agriculture ont été retenus (n = 567). Les analyses portent sur les familles de pesticides identifiées chez plus de 5 % des personnes non dépressives. Treize familles d'herbicides ont été évaluées, parmi lesquelles les organophosphorés comprenant le glyphosate et herbicides apparentés. L'analyse portant sur 83 patients met en évidence une élévation du risque de dépression en lien avec l'utilisation d'herbicides (HR = 1,93 ; IC 95 % [0,95-3,91]), plus marquée et devenant significative lorsque cette utilisation dépassait 19 années (HR = 2,31 ; IC 95 % [1,05-5,10]) ou lorsqu'on prenait en compte le nombre d'heures d'exposition. Les analyses restreintes aux familles d'herbicides ont révélé des associations significatives seulement pour les carbamates, les dinitrophénols et l'acide picolinique. Il n'était donc pas mis spécifiquement en évidence de lien avec le glyphosate et les molécules apparentées.

Pathologies de la thyroïde

Dans la cohorte AHS (Shrestha et coll., 2018b), l'auto-déclaration d'une hypothyroïdie à l'inclusion (n = 829) a été étudiée en relation avec l'utilisation d'une liste de 50 pesticides au cours de la vie, ainsi qu'avec un indicateur d'exposition cumulée (nombre de jours d'utilisation au cours de la

vie, pondéré par l'intensité ; classé en trois ou quatre catégories selon les effectifs). Cette mesure d'exposition par questionnaire était réalisée au moment de l'inclusion chez 35 150 applicateurs professionnels (98 % hommes) avec un suivi de 20 ans. Des analyses de sensibilité ont été réalisées pour évaluer l'impact de l'attrition (nombre de sujets perdus de vue lors du suivi), qui se sont révélées sans impact sur la mesure de l'association. Dans cette étude, après ajustement sur sexe, âge, région et tabagisme, le risque d'hypothyroïdie était augmenté chez les participants qui avaient utilisé quatre insecticides organochlorés (aldrine, heptachlore et lindane parmi les participants de plus de 62 ans ; chlordane chez l'ensemble des participants), quatre insecticides organophosphorés (coumaphos chez les plus âgés ; diazinon, dichlorvos, et malathion chez l'ensemble des participants) et trois herbicides (dicamba, glyphosate, et 2,4-D chez l'ensemble). Les HR (*Hazard ratio*) étaient compris entre 1,21 ; IC 95 % [1,04-1,41] pour le chlordane et 1,54 ; IC 95 % [1,23-19,4] pour le lindane chez les plus de 62 ans ; pour le glyphosate il était de 1,28 ; IC 95 % [1,07-1,52]. Lorsque l'usage de glyphosate était modulé par la durée et l'intensité d'exposition, seules les personnes exposées dans le premier et deuxième tercile (comparé au groupe de référence constitué par les non-utilisateurs) présentaient un risque significativement augmenté (HR = 1,27 ; IC 95 % [1,03-1,69] et HR = 1,38 ; IC 95 % [1,12-1,69] respectivement). Le risque n'était plus significatif chez les personnes les plus exposées (HR = 1,17 ; IC 95 % [0,94-1,45]) et la relation dose-réponse non significative (p = 0,95).

Dans une autre étude de la cohorte AHS (Lerro et coll., 2018), une association modérée et non significative était observée entre l'exposition au glyphosate et une augmentation de la TSH (*thyroid-stimulating hormone*) circulante pour le 4^{e} quartile d'exposition comparé au groupe de référence non exposé (OR = 1,14 ; IC 95 % [0,99-1,33]). Toutes les associations était ajustées sur l'âge, la région, l'IMC, le tabagisme et sur les autres pesticides associés au pesticide étudié.

Chez les épouses des applicateurs de cette même cohorte, une analyse longitudinale a été menée après un suivi de 20 ans (Shrestha et coll., 2018a). Elle incluait 1 627 cas rapportés d'hypothyroïdie et 531 d'hyperthyroïdie. L'utilisation de glyphosate en particulier n'était pas associée au risque d'hypothyroïdie (HR = 1,07 ; IC 95 % [0,95-1,20]).

En résumé, les données sur l'exposition au glyphosate proviennent toutes de la cohorte AHS. Un excès de risque d'hypothyroïdie chez les hommes applicateurs de pesticides est observé mais n'est pas retrouvé chez leurs épouses applicatrices de pesticides.

Anomalies de la grossesse et maladies chez les enfants

Une étude de cohorte réalisée chez 71 femmes en Inde a rapporté une corrélation négative entre les concentrations urinaires en glyphosate mesurées au cours de la grossesse et la durée de gestation (Parvez et coll., 2018). Aucune corrélation n'a été observée avec le poids de naissance ou le périmètre crânien.

Une revue systématique de la littérature explorant le lien entre une exposition au glyphosate et des anomalies de grossesse, des maladies chez les enfants ou une modification du sexe ratio a été récemment conduite (De Araujo et coll., 2016). Aucune association entre le glyphosate et des anomalies sur la grossesse et la descendance n'a été trouvée à l'exception d'un syndrome d'hyperactivité (*Attention Deficit Hyperactivity Disorder*) avec un OR = 3,6 ; IC 95 % [1,3-9,6] chez les enfants nés de parents applicateurs de glyphosate. L'étude qui rapportait cette association a été menée chez des enfants âgés d'un an et plus dont les parents étaient agriculteurs dans la *Red River Valley* (Minnesota) exposés aux herbicides incluant des GBH (Garry et coll., 2002).

Une étude cas-témoins réalisée dans la région de la vallée centrale de Californie aux États-Unis (von Ehrenstein et coll., 2019) a montré un risque augmenté de survenue de troubles du spectre autistique chez les enfants en lien avec une exposition prénatale à certains pesticides estimés par la présence d'une exploitation agricole employant des pesticides à moins de 2 000 m de la résidence maternelle. Parmi les pesticides associés à cette augmentation de risque figure le glyphosate (OR = 1,16 ; IC 95 % [1,06-1,27]).

Une étude cas-témoins réalisée en Caroline du Nord aux États-Unis s'est intéressée aux liens entre une exposition prénatale à des pesticides estimés par leur emploi à moins de 500 m du lieu de résidence maternelle et le risque de survenue de malformations (Rappazzo et coll., 2019). Un risque augmenté de malformations cardiaques septales a été constaté en lien avec la proximité à des exploitations agricoles employant du glyphosate mais aussi de la cyhalothrine, du S-métolachlore, du mépiquat, ou de la pendiméthaline.

Dans une étude écologique réalisée en Colombie, les auteurs ont rapporté une augmentation de consultations pour fausses-couches en lien avec des campagnes d'épandage d'herbicides dans la lutte contre les cultures illicites (Camacho et Mejía, 2017).

Maladie rénale chronique d'étiologie inconnue

L'hypothèse du rôle du glyphosate dans la survenue de maladies rénales chroniques a été évoquée à partir des années 1990, plus particulièrement dans des zones tropicales (Sri Lanka, Inde, Égypte, Amérique Centrale), suite à des épidémies de ces affections chez des travailleurs agricoles. Ces maladies rénales chroniques de cause inconnue surviennent chez des personnes jeunes, plus souvent des hommes, travaillant en agriculture, et elles auraient entraîné la mort prématurée de plusieurs dizaines voire centaines de milliers d'entre elles. Dans certaines de ces zones tropicales, la prévalence de ces maladies serait de l'ordre de 15 % chez les adultes de moins de 70 ans (Jayasumana et coll., 2015a), et ne s'explique pas par la présence de diabète, d'hypertension ou de glomérulonéphrite. Des explorations biologiques ont mis en évidence une élévation de la créatinine plasmatique dans une phase préclinique, évoquant une atteinte de la filtration glomérulaire et les lésions anatomopathologiques chez les patients sont en faveur d'une néphropathie toxique. Diverses hypothèses ont été émises pour expliquer la survenue de ces atteintes rénales : la déshydration liée au travail physique en zone chaude, l'exposition à des métaux (comme le cadmium ou le plomb), des pesticides, des mycotoxines (comme l'ochratoxine A, la citrinine).

Une étude cas-témoins a été menée au Sri Lanka (125 cas et 180 témoins hospitaliers) et a identifié, après ajustement sur l'âge, le sexe, le niveau d'études et les antécédents familiaux de cette maladie, un lien avec la consommation d'eau du puits (OR = 2,52 ; IC 95 % [1,12-5,70]) atteignant un quintuplement du risque lorsque l'eau provenait d'un puits abandonné (le glyphosate y était plus souvent détecté ; OR = 5,43 ; IC 95 % [2,88-10,26]), ainsi qu'avec l'usage de glyphosate (OR = 5,12 ; IC 95 % [2,33-11,26]). Des élévations de risque étaient observées pour d'autres pesticides (MCPA, bispyribac, mancozèbe) mais les niveaux de risque apparaissaient moins élevés qu'avec le glyphosate (Jayasumana et coll., 2015a).

En 2014, une étude prospective incluant 350 hommes et femmes travaillant en agriculture (canne à sucre et banane) âgés de 18 à 30 ans, a été mise en place au Nicaragua, afin de suivre tous les 6 mois leur fonction rénale et d'objectiver leurs expositions. Des mesures dans les urines à l'inclusion et à 6 mois ont été réalisées pour les éléments suivants : aluminium, arsenic, cadmium, chrome, cobalt, cuivre, plomb, manganèse, mercure, sélénium, silicone et strontium ainsi que pour l'ochratoxine A et la citrinine. Pour les pesticides, les dosages urinaires ont porté sur : 2,4-D, MCPA, glyphosate, des métabolites d'insecticides dont les pyréthrinoïdes, et des métabolites de fongicides triazoles, pyrimidines, et dithiocarbamates. Le glyphosate a été détecté dans environ 30 % des échantillons urinaires (limite de détection 0,1 µg/l).

Bien qu'environ 10 % des hommes et 3 % des femmes aient présenté une chute rapide de la fonction rénale après 2 ans de suivi, il n'a pas été mis en évidence de différence entre leurs niveaux urinaires pour les différents contaminants mesurés et ceux des personnes dont la fonction rénale était restée stable (Smpokou et coll., 2019).

En résumé, il n'est pas aujourd'hui possible de conclure sur l'étiologie de cette maladie rénale devenue un important problème de santé publique dans plusieurs pays tropicaux, même si des facteurs liés aux activités agricoles ou au mode de vie rural ont été retrouvés dans la plupart des endroits. L'implication de pesticides reste une piste d'intérêt mais il existe aujourd'hui trop peu d'éléments pour conclure au rôle spécifique du glyphosate.

Données toxicologiques

Le mode d'action du glyphosate en tant qu'herbicide consiste en une inhibition de la 5-énolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphate synthase (EPSPS) qui participe à la synthèse d'acides aminés aromatiques chez les plantes, les champignons et certaines bactéries (voie du shikimate) mais aussi à une inhibition de la phosphoénolpyruvate carboxylase (plantes en C4 et crassulacées) et de l'activité nitrogénase (qui permet chez certaines bactéries, la formation de NH_3 à partir de l'azote atmosphérique). Contrairement aux plantes, bactéries et champignons, les animaux ne possèdent pas de gène codant l'EPSPS.

Un des objectifs de cette contribution consiste à qualifier les différents mécanismes de toxicité du glyphosate chez les animaux. L'abondante littérature sur les essais *in vitro ou in vivo* rapporte souvent des études avec des niveaux de traitement ou d'exposition élevés. Cette pratique est utilisée par les toxicologues des essais réglementaires qui utilisent des gammes de concentrations (élevées à moins élevées) pour mettre en évidence un effet critique. En conséquence, nous n'avons pas pris en compte de nombreuses publications issues d'expérimentations *in vitro* réalisées à forte dose. Par exemple, des essais de génotoxicité *in vitro* sont difficilement interprétables si le pourcentage de mort cellulaire est élevé.

Études de cancérogenèse chez l'animal

Des études de cancérogénicité à 2 ans chez le rat et 18 mois ou 2 ans chez la souris, exposés par voie orale (sauf une par voie dermale), ont été réalisées et les résultats analysés par différentes agences. L'agence européenne dans le cadre d'une réévaluation de l'autorisation du glyphosate a mandaté un comité

d'expertise coordonné par l'Institut fédéral allemand d'évaluation des risques (BfR). Le nombre d'études retenues par ce comité sont, pour le modèle souris et rat respectivement de 6 et 10. Le Circ a évalué 3 et 7 études pour le modèle souris et rat parmi celles rapportées dans le document du BfR (tableau 19.IV, voir en fin de ce chapitre). Le comité d'experts du Circ conclut à une augmentation d'incidence de tumeurs pour certaines études à la fois chez la souris et le rat alors que le BfR considère que les résultats de cancérogenèse chez les rongeurs sont négatifs. Les deux instances s'accordent sur 1 étude mal conduite chez les souris et 3 chez les rats ainsi que 2 résultats négatifs chez les rats. Quels sont les arguments scientifiques avancés par l'Efsa et l'Echa pour invalider les résultats considérés comme positifs par le Circ ?

Chez la souris

• Excès d'hémangiosarcomes chez les mâles (Atkinson et coll., 1993a) à forte dose avec cependant une absence de différence significative en comparant les valeurs par paire (test Fisher). Ce résultat est considéré comme négatif par l'Echa et l'Efsa avec une incidence observée qui relèverait d'un effet spontané non relié au traitement. Le test de tendance est significatif chez les mâles, il reste donc difficile d'interpréter ce résultat et d'occulter complètement cette augmentation.

• Excès d'adénomes rénaux chez les mâles de la souche CD-1 observé à la plus forte dose d'exposition (4 841 mg/kg pc/j) (Knezevich et Hogan, 1983), ceci n'est pas retrouvé chez les femelles. Ce résultat est considéré comme négatif pour les tumeurs rénales par l'Echa et l'Efsa considérant que l'augmentation n'est retrouvée qu'à forte dose et qu'un seul sexe est concerné. De plus, un autre pathologiste (EPA, 1985b) a ré-évalué les lames et conclu à la présence d'une tumeur dans le groupe contrôle et indiqué que la nature des tumeurs (adénome ou carcinome) était difficile à évaluer.

• Excès de lymphomes malins chez les mâles et les femelles dans une étude de cancérogénicité orale sur la souris Swiss (Kumar, 2001). La preuve d'effet cancérogène a été jugée limitée. Par ailleurs, l'Efsa remet en question la validité de l'étude en raison d'une infection virale pour tous les groupes de souris, considérant que cette infection peut retentir sur la survie et l'incidence des tumeurs, notamment des lymphomes (Efsa, 2015a). Cependant, la conclusion de l'Efsa a été remise en cause par l'Echa qui n'a pas pu mettre en évidence une infection virale (Echa, 2016). De plus, les résultats varient en fonction de l'analyse statistique, il est donc difficile d'exclure un résultat positif.

• L'étude de Wood et coll., non considérée par le Circ, est rapportée comme négative par l'Echa et l'Efsa (Wood et coll., 2009b). Cependant, l'analyse

de l'incidence des lymphomes donne un résultat positif uniquement chez les mâles, résultat non retenu par le BfR. On peut noter un résultat positif pour les mâles, difficile à interpréter.

Chez le rat

• Excès d'adénomes des îlots pancréatiques (différence significative pour un ou plusieurs lots sans progression vers la malignité) chez les mâles dans une étude de cancérogénicité orale (Stout et Ruecker, 1990). Un excès de l'incidence combinée des adénomes et carcinomes à la plus faible dose est également observé. Les résultats étaient considérés comme positifs pour l'adénome par l'Echa et l'Efsa aux doses élevées.

• Excès d'adénomes thyroïdiens à cellules C chez les femelles, sans évolution vers le carcinome (Stout et Ruecker, 1990). Ce résultat est considéré comme positif pour les adénomes et comme négatif pour les adénocarcinomes. Cependant, l'incidence spontanée de cette tumeur bénigne est assez élevée (de l'ordre de 4-10 %) chez les rates de la souche Sprague-Dawley avec une évolution très rare vers l'adénocarcinome (ATSDR, 2019).

La discussion sur le test statistique à utiliser, la prise en compte des témoins historiques ainsi que le développement de certaines tumeurs bénignes qui n'évoluent pas vers le cancer constituent la base de l'argumentaire du BfR. On notera que les valeurs observées pour les témoins historiques sont fonction du lieu d'expérimentation, de la souche, de la date, du nombre d'animaux et en conséquence ne sont pas généralisables (Clausing et coll., 2018).

En résumé, les données de cancérogenèse expérimentale entre l'exposition au glyphosate et l'occurrence de quelques types de tumeurs établissent un lien mais généralement limité à un seul sexe et selon les cas sur des lignées sensibles ou à très fortes doses d'exposition. Au vu de cet ensemble de résultats, le niveau de preuve de cancérogénicité chez le rongeur est non nul mais relativement limité.

Études de génotoxicité

Une batterie de tests *in vitro* et *in vivo* est utilisée par les agences suivant les lignes directrices de l'OCDE pour caractériser un effet génotoxique c'est-à-dire conduisant à un ou plusieurs types de dommages de l'ADN comme des cassures (évaluées par le test des comètes), d'aberrations chromosomiques (test des micronoyaux, test d'échange de chromatides sœurs, test d'aberrations chromosomiques) ou d'adduits à l'ADN (test de synthèse non

programmée de l'ADN [*Unscheduled DNA Synthesis test* ; UDS]). Ces modifications de l'ADN sont susceptibles de conduire à des mutations soit ponctuelles, soit de réarrangements chromosomiques.

Un des tests actuellement très utilisé, notamment dans les études décrites ci-dessous, pour caractériser un effet « cassures de l'ADN » (c'est-à-dire clastogène) induit par un agent génotoxique (ou lors de processus comme l'apoptose ou suicide cellulaire) est le test des comètes. Il s'agit d'une technique d'électrophorèse sur agarose, conduite très souvent en condition alcaline, réalisée sur différents types cellulaires en culture (*in vitro*) ou provenant d'animaux (*in vivo*) exposés par exemple au glyphosate ou aux GBH. Les cellules sont incluses dans un gel d'agarose à bas point de fusion puis lysées par incubation avec un détergent en condition alcaline, leurs noyaux libérés sont alors soumis à une électrophorèse puis l'ADN est révélé après neutralisation par un agent intercalant fluorescent. En l'absence de dommages, l'ADN forme une sphère compacte. En cas de dommages, des comètes atypiques sont produites pour des concentrations cytotoxiques et le test doit être réalisé dans une gamme de concentrations *in vitro* dont la plus élevée correspond à environ 20 % de mortalité cellulaire (DL_{20}). L'essai des comètes en condition alcaline a pour conséquence de quantifier non seulement la présence de cassures simple ou double-brin d'ADN mais aussi de sites alcali-labiles. Enfin, l'utilisation d'endonucléases reconnaissant les bases oxydées telles que la Fpg (Formamidopyrimidine-DNA glycosylase) ou l'endo III (endonucléase III) produites par *E. coli* ou encore la hOGG1 (*8-oxoguanine DNA N-glycosylase 1*) produite par les cellules humaines permet de quantifier les bases oxydées de l'ADN, un des signes de production d'un stress oxydant. Cette technique est utilisée par les laboratoires académiques et en toxicologie réglementaire car elle est non invasive, sensible, rapide et quantificative. Par contre, il est particulièrement délicat de comparer des résultats si les électrophorèses n'ont pas été réalisées en parallèle (par exemple d'études différentes).

Des résultats positifs et négatifs ont été obtenus sur la base de tests *in vitro* ou *in vivo* d'exposition au glyphosate et aux GBH et sont présentés ci-dessous. Pour rappel, nous n'avons pas pris en compte de nombreuses publications issues d'expérimentations *in vitro* réalisées à forte dose, car des essais de génotoxicité de ce type sont difficilement interprétables si le pourcentage de mort cellulaire est élevé.

Mise en évidence d'un effet génotoxique

- ***Tests* in vitro *sur des cellules sanguines leucocytaires***

De nombreuses publications rapportent des évènements clastogènes sur des systèmes animaux ou végétaux. Quelques exemples récents de mise en évidence d'induction de cassures de l'ADN sont mentionnés ci-après.

L'exposition de cellules mononuclées de sang périphérique (plus connues sous le nom de « *peripheral blood mononuclear cells* », ou PBMC, constituées de lymphocytes et monocytes) au glyphosate à la concentration de 42,3 mg/l (0,25 mM) provoque la formation de dommages à l'ADN détectés par le test des comètes en conditions alcalines, qui ne sont pas tous réparables (Kwiatkowska et coll., 2017). Une deuxième étude utilisant le même modèle avec une gamme de produits (glyphosate, AMPA ou Roundup 360 PLUS) plus élargie a été conduite plus récemment (Woźniak et coll., 2018) et montre que la formulation Roundup 360 PLUS induit des comètes en milieu alcalin dès 5 µM pour une concentration de glyphosate 50 à 100 fois inférieure à celles obtenues respectivement avec le glyphosate pur (0,25 mM, égal à 42,3 mg/l) et l'AMPA (0,5 mM, égal à 55,5 mg/l). Ces résultats ne s'expliquent pas par une cytotoxicité générale, car la viabilité des cellules exposées au glyphosate à 169 mg/l (1 mM) est de 98,8 % (Woźniak et coll., 2018). La nature des cassures a été caractérisée dans cette étude ; ainsi, des cassures double-brins sont observées à 1,69 mg/l (10 µM) de glyphosate sous forme de Roundup 360 PLUS et 169 mg/l (1 mM) pour le glyphosate pur. Parmi les pistes mécanistiques explorées pour expliquer ces cassures, les auteurs constatent une augmentation de production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ou *Reactive Oxygen Species* ; ROS) suite à l'exposition au Roundup 360 PLUS et au glyphosate (Woźniak et coll., 2018) dont les potentiels effets mécanistiques seront détaillés plus loin. La comparaison de ces deux études montre que la formulation conduit à un effet génotoxique bien plus prononcé que le glyphosate seul.

D'autres modèles cellulaires sanguins proches peuvent être utilisés. Les effets cytotoxiques et génotoxiques ont été évalués à l'aide respectivement du test MTT (qui mesure l'activité de déshydrogénases intracellulaires) et du test des comètes sur des cellules de lymphome de Burkitt (lignée Raji) exposées au glyphosate pendant 20 à 120 min à des concentrations entre 0,017 et 2 535 mg/l (0,1 µM et 15 mM). La cytotoxicité est observée à 1 690 mg/l (10 mM) alors que des cassures sont quantifiées à 169 et 845 mg/l (1 et 5 mM) à des temps courts, et absentes pour des temps longs indiquant une capacité de réparation de ces cassures par les cellules. Les auteurs concluent que pour des concentrations allant jusqu'à 16,9 mg/l (100 µM), le glyphosate n'est pas cytotoxique et ne produit pas de cassures de l'ADN détectables (Townsend et coll., 2017) probablement en raison d'un mécanisme efficace de réparation des cassures simple-brin (dépendant de XRCC1/PARP/Lig3) et/ou double-brin (dépendant de Ku70-80/DNA-PK/Lig4). Ce résultat est différent de celui obtenu avec les PBMC et peut s'expliquer par le fait que ces dernières ne répliquent pas leur ADN et de ce fait, présentent une activité de réparation des cassures faible ou absente alors que les cellules Raji se

divisent rapidement et possèdent des mécanismes efficaces de réparation des dommages à l'ADN (la réplication étant un processus potentiellement génotoxique). Ces résultats montrent donc que le choix du modèle cellulaire est clé pour évaluer la génotoxicité (et la cytotoxicité).

Le choix de l'espèce peut également être important. Par exemple, l'exposition de lymphocytes de tatou (*Chaetophractus villosus*) au glyphosate à des concentrations de 65, 97,5, 130 et 260 mg/l (sous forme de Roundup Full II) induit un effet génotoxique avec des aberrations chromosomiques (130 mg/l), et des échanges de chromatides sœurs (65 mg/l) (Luaces et coll., 2017). Ces concentrations de glyphosate sont beaucoup plus importantes que celles identifiées avec les PBMC (mais le produit utilisé est aussi différent).

Enfin, l'AMPA induit des cassures de l'ADN sur des lymphocytes humains exposés à 200 mg/l (1,8 mM) (Mañas et coll., 2009a), concentration sans effet sur la valeur de l'index mitotique. Cette activité génotoxique de l'AMPA pourrait être importante à prendre en compte car les plantes et les microorganismes du sol sont capables de métaboliser le glyphosate en AMPA et qu'il se retrouve dans les sols, les résidus des plantes et dans l'eau (Mamy et coll., 2016 ; Tong et coll., 2017).

- ***Tests* in vitro *sur d'autres modèles cellulaires***

D'autres modèles que les cellules sanguines leucocytaires pré-décrites ont été étudiés, compte tenu de la distribution du glyphosate dans l'organisme qui peut affecter aussi bien les cellules sanguines que l'ensemble des organes.

Des cellules épithéliales humaines buccales (lignée TR146) ont été exposées au glyphosate ou au Roundup Ultramax (Koller et coll., 2012). Des effets génotoxiques significatifs en test des comètes sont observés dès 20 mg/l de glyphosate pur et pour le test des micronoyaux (un autre test de génotoxicité) dès 20 mg/l de glyphosate sous forme du GBH Roundup Ultramax (sans atteinte de l'intégrité cellulaire) avec des marqueurs activés de la mort cellulaire dès 20 mg/l pour ces formulations (nécrose pour les deux, apoptose avec le glyphosate pur).

Des cellules hépatiques humaines de la lignée HepG2 ont été exposées à 0,5, 2,91 et 3,5 mg/l de glyphosate pendant 4 ou 24 h. La dose de 0,5 mg/l induit des dommages oxydatifs et des cassures de l'ADN après 24 h d'exposition (Kaüba et coll., 2017).

Des cellules Hep-2 exposées au glyphosate donnent un résultat positif en test des comètes à partir de 3 mM (500 mg/l) (Mañas et coll., 2009b). Sur ces mêmes cellules, l'effet génotoxique de l'AMPA a été analysé par le test

des comètes ; il provoque des cassures à l'ADN à partir de 2,5 mM (277 mg/l) (Mañas et coll., 2009a).

L'exposition de cellules ovariennes de hamster (CHO-K1) à l'AMPA conduit à la production de micronoyaux à une dose 1 000 fois inférieure à celle du glyphosate nécessaire pour obtenir le même effet (Roustan et coll., 2014). Cependant la très faible métabolisation hépatique (< 1 %) explique le faible effet mutagène observé avec le glyphosate (BfR, 2015a).

- ***Tests* in vivo**

Différents modèles *in vivo* peuvent être utilisés pour évaluer des effets génotoxiques (souris, poissons, crustacés...).

Des effets génotoxiques sont observés sur des cellules rénales et hépatiques de souris traitées par deux injections intra-péritonéales de 300 mg/kg de glyphosate (concentration élevée) après 4 h d'exposition (mais pas après 24 h), ainsi que la formation de micronoyaux dans la moelle (Bolognesi et coll., 1997). Cet effet est aussi relevé par Mañas et coll. qui montre un effet génotoxique à 200 mg/kg du glyphosate (deux injections intra-péritonéales à 24 h d'intervalle) chez la souris (Mañas et coll., 2009b). Avec des doses plus faibles (25 et 50 mg/kg), la présence d'aberrations chromosomiques et de micronoyaux est observée dans la moelle osseuse de souris exposées par voie intra-péritonéale après 24, 48, et 72 h (Prasad et coll., 2009). Les résultats sont positifs pour les deux doses et les différents temps.

L'exposition de poissons (*Channa punctatus*) au Roundup (41 % glyphosate) à des doses sub-létales donc très élevées (1/10^{e}, 1/8^{e} et 1/5^{e} de la DL_{50}) provoque des cassures de l'ADN observées dans les hématies et les cellules branchiales dès 3,25 mg/l de glyphosate (1/10^{e} de la DL_{50}) (Nwani et coll., 2013). Les activités enzymatiques antioxydantes CAT et SOD sont diminuées dans le sang et les branchies dès la plus faible dose d'exposition. L'induction de cassures de l'ADN est aussi détectée par le test des comètes dans les érythrocytes d'un autre type de poissons (*Oreochromis niloticus*) exposés au glyphosate à la dose environnementale de 0,12 mg/l. Des résultats similaires sont obtenus sur des cellules branchiales d'anguilles exposées (*Anguilla anguilla*) au glyphosate ou au Roundup Ultra (Guilherme et coll., 2010 ; Guilherme et coll., 2012 ; Guilherme et coll., 2014) avec la mise en évidence de la production de dommages oxydatifs (8-oxoG) et la diminution des défenses antioxydantes au niveau des branchies et du foie.

Deux modèles de crustacés ont également fait l'objet d'études génotoxiques : l'exposition de crabes (*Eriocheir sinensis*) au glyphosate pendant 96 h aux concentrations de 4,4, 9,8, 44 et 98 mg/l (DL_{50} = 98 mg/l), donc très élevées,

provoque des cassures de l'ADN (test des comètes) dès 4,4 mg/l (Hong et coll., 2017). Un stress oxydatif avec présence de dommages génotoxiques est également observé pour des hématies de crevettes exposées au Roundup (41 % glyphosate) pendant 96 h à des doses sub-létales (0,35, 0,70, 1,40, 2,80 et 5,60 mg/l ; DL_{50} = 11,2 mg/l) (Hong et coll., 2018). L'essai des comètes est positif dès la plus faible concentration et l'induction de micronoyaux dès 1,4 mg/l. Ces effets reposent non exclusivement sur une baisse des défenses antioxydantes (SOD, CAT) dès 0,35 mg/l comme sur le modèle de poisson *Channa punctatus*. Des évènements clastogènes tels que l'induction de cassures de l'ADN d'aberrations chromosomiques sont aussi rapportés chez les plantes (Lioi et coll., 1998 ; Alvarez-Moya et coll., 2011 ; Frescura et coll., 2013).

En résumé, sur différents modèles expérimentaux, de nombreux résultats sont positifs en test des comètes *in vitro* et *in vivo*. Toutefois, les protocoles sont très variables en matière de modèles, de temps d'exposition, de types de produits utilisés (glyphosate ou formulations) et de doses. Lorsque les études sont réalisées en parallèle, les effets génotoxiques sont obtenus pour de plus faibles concentrations de glyphosate utilisées sous forme de GBH par comparaison au principe actif seul. En comparaison des niveaux d'exposition, plusieurs tests *in vitro* observent des effets génotoxiques à des concentrations proches de celles qui peuvent être détectées dans l'environnement. À titre d'exemple, en France, les concentrations de glyphosate ne dépassent pas 0,07 mg/l dans les eaux de surface, cette valeur est donc proche de celle induisant des effets génotoxiques sur *Oreochromis niloticus* (soit 0,12 mg/l) (Alvarez-Moya et coll., 2014).

Pas de mise en évidence d'un effet génotoxique

- ***Tests* in vitro**

Deux études ont rapporté que les hépatocytes de rat exposés *in vitro* au glyphosate montrent une absence d'induction de synthèse non programmée de l'ADN (test UDS) (Li et Long, 1988 ; Rossberger, 1994). Néanmoins, cette méthode est aujourd'hui considérée comme insuffisamment sensible et la ligne directrice de l'OCDE correspondante (OCDE essai n° 486) n'a pas été mise à jour et d'autres tests tels que l'essai des comètes sont recommandés (OECD, 2015). De plus, ce test correspond au marquage d'une réplication suite à un évènement d'excision de lésions de l'ADN et le glyphosate n'a pas été démontré comme producteur d'adduits à l'ADN directement ou indirectement. Ces résultats n'apportent donc pas d'informations utilisables sur le plan de l'évaluation du potentiel génotoxique.

Des résultats négatifs ont été mentionnés par le BfR sur la base d'études produites par les industriels, non disponibles pour les experts, car non rendues publiques.

- ***Tests* in vivo**

Chez les plantes, une absence d'induction d'aberrations chromosomiques est observée suite à l'exposition des bulbes d'oignons (*Allium cepa*) à des concentrations de glyphosate isopropylamine jusqu'à 2,88 mg/l, (IC_{50} = 5,5 mg/l), mais le test est positif pour une exposition à 1,44 et 2,88 mg/l du principe actif sous forme de Roundup (IC_{50} = 1,2 mg/l) avec cependant une absence d'effet dose qui peut être due à l'effet toxique (Rank et coll., 1993). Une absence d'induction de micronoyaux est observée lorsque des fèves (*Vicia faba*) sont exposées pendant 4 jours au glyphosate (De Marco et coll., 1992).

Chez les rongeurs, on observe une absence d'effet chez la souris dans le test du dominant létal (EPA, 1980), une absence d'induction de micronoyaux dans la moelle osseuse chez la souris après une exposition unique par voie intrapéritonéale soit de glyphosate sel d'isopropylamine (100-200 mg/kg) soit de glyphosate sel d'isopropylamine sous forme de Roundup (133 et 200 mg/kg) (Rank et coll., 1993) et une absence d'induction d'aberration chromosomique suite à une exposition unique par voie intrapéritonéale chez le rat (Li et Long, 1988).

En résumé, les études montrant une absence de génotoxicité du glyphosate semblent moins importantes tant sur le plan qualitatif ou quantitatif que celles suggérant un effet positif. Si une comparaison est effectuée entre deux études assez similaires montrant des résultats opposés, comme par exemple chez la souris (exposition intrapéritonéale à 200 mg/kg de glyphosate) (Rank et coll., 1993 ; Mañas et coll., 2009b), il est très intéressant de noter que l'étude de Mañas intègre une deuxième injection 24 h après la première suggérant que la répétition de l'exposition (phénomène plausible) est importante à considérer. La chronicité de l'exposition au glyphosate ou aux GBH représenterait donc un paramètre important. De plus, la réponse positive est plus prononcée avec les préparations commerciales par comparaison au principe actif lorsque les études sont menées en parallèle (et donc comparables). Cette augmentation des effets induits par les préparations commerciales est due aux surfactants ajoutés.

Avec le test des micronoyaux sur modèles vertébrés, différent de celui des comètes classiquement utilisé dans un grand nombre d'études, une méta-

 analyse de la littérature conclut également à un effet génotoxique (Ghisi

Nde et coll., 2016). Enfin, un dimorphisme sexuel est observé avec un effet plus marqué chez les rongeurs mâles que les femelles.

Parmi ceux présentant des résultats positifs, les doses utilisées sont parfois cohérentes (bien que supérieures) sur le plan de l'exposition environnementale. Les effets génotoxiques relevés sur des modèles expérimentaux moins classiques (poissons, crustacés) ont été mis en évidence par certains auteurs (Alvarez-Moya et coll., 2014 ; Hong et coll., 2017).

Effets mutagènes

Un test de mutagenèse chez les bactéries (test d'Ames) est négatif avec le glyphosate et ce résultat est retrouvé avec les tests de mutagenèse sur des cellules eucaryotes : mutations au site *Hprt* de cellules CHO ou au locus *Tk* de cellules de lymphome de souris (ensemble des résultats rapportés dans le rapport de l'Echa (Echa, 2016). Toutefois, des résultats positifs ont aussi été rapportés sur un test d'échange de chromatides sœurs réalisé sur des lymphocytes bovins dès 2,87 mg/l (17 µM) (Lioi et coll., 1998).

En conclusion, si les résultats obtenus avec les tests de génotoxicité et mutagénicité sont pris en compte dans leur globalité, de nombreux travaux ont été publiés avec des résultats plutôt positifs quant à un effet génotoxique. Par contre, les essais *in vitro* de mutagenèse chez les bactéries ou cellules eucaryotes sont négatifs pour la quasi-totalité des résultats rapportés. Cependant, l'induction directe ou indirecte d'un stress oxydant potentiellement impliqué dans un processus d'instabilité génétique (et susceptible d'expliquer les observations génotoxiques) a été retrouvée pour différentes espèces et systèmes cellulaires. Ce résultat est par exemple retrouvé pour les poissons à des doses d'exposition compatibles avec une exposition environnementale (Nwani et coll., 2013).

Mécanismes de toxicité

Bien que le glyphosate soit sélectif pour les plantes, ce principe actif peut provoquer des dysfonctionnements aboutissant potentiellement à des pathologies chroniques chez les animaux en rapport avec des modes d'action différents de l'inhibition de la voie métabolique du shikimate. Ainsi, de nombreuses publications rapportent de potentiels effets cancérogènes ou non cancérogènes incluant des effets de type perturbations endocriniennes (PE). Par ailleurs, de nombreuses pathologies des vertébrés dont l'être humain, sont associées à des modifications du microbiote, et on sait que certaines

bactéries expriment l'EPSPS, qui est l'enzyme touché par le glyphosate dans son mode d'action en tant qu'herbicide.

Le croisement des termes « cancer » et « glyphosate » dans des recherches bibliographiques permet d'extraire un certain nombre d'études mécanistiques apparaissant parfois contradictoires mais souvent réalisées dans des conditions expérimentales différentes. Par ailleurs, malgré des doses qui sont parfois relativement élevées, les GBH commercialisés contiennent un pourcentage variable de glyphosate. Par exemple, le « *Roundup ready* » (360 g/l de glyphosate) est dilué entre 1 et 3 % pour une concentration effective d'usage comprise entre 3,6 et 10,8 g/l (soit 21-64 mM).

Plusieurs marqueurs de toxicité (aiguë/chronique, organites/noyau cellulaire, multi-générations…) peuvent être hiérarchiquement abordés pour présenter le versant mécanistique à commencer par les phénomènes de cytotoxicité.

Cytotoxicité

Parmi les premières études réalisées, l'utilisation de cultures de tissus d'hépatome de rat (lignée HTC) traitées par des doses élevées de Roundup comprises entre 1 et 10 mM (169 et 1690 mg/l) pour 4 à 48 h (Malatesta et coll., 2008) ne montre pas d'effet sur la viabilité cellulaire mais révèle des modifications de certaines caractéristiques nucléaires, cytoplasmiques et mitochondriales (taille et nombre des vacuoles cytoplasmiques, nombre de lysosomes, modifications structurales chromatiniennes, diminution du ratio de longueur membrane interne/externe de la mitochondrie).

Plus récemment, une libération significative de lactate déshydrogénase (LDH, marqueur de viabilité cellulaire normalement uniquement cytoplasmique) dans le milieu extracellulaire a été constatée sur des cellules épithéliales humaines buccales (lignée TR146), pour des concentrations supérieures à 10 mg/l de glyphosate dans le Roundup et à partir de 200 mg/l avec le glyphosate seul. Ces concentrations sont bien inférieures à celles des solutions pulvérisées qui peuvent se retrouver en contact avec ce type de cellules au niveau buccal ou plus généralement cutané. Une altération des fonctions mitochondriales évaluées par le test XTT est observée avec le Roundup à partir de 60 et 100 mg/l respectivement (mais pas avec le glyphosate). Enfin, le test au rouge neutre est positif avec le Roundup à partir de 100 mg/l de glyphosate (Koller et coll., 2012).

L'utilisation de la microscopie à force atomique (et du « *Peak Force Tapping* ») sur d'autres cellules épithéliales de peau (lignée HaCaT) traitées avec 2 535 ou 5 070 mg/l (15-30 mM) de glyphosate (donc à des doses élevées

mais également compatibles avec les solutions pulvérisées) pendant de courtes périodes (< 24 h) révèlent aussi des modifications membranaires (aplatissement, changement de la nature des protubérances cellulaires) (Heu et coll., 2012).

La question d'une toxicité cellulaire différentielle entre le glyphosate et les GBH était attendue en raison de la faible toxicité du glyphosate par rapport à celle des agents surfactants, présents parfois à des concentrations élevées (Mesnage et coll., 2013 ; Mesnage et coll., 2015 ; Vanlaeys et coll., 2018). Une analyse du transcriptome de cellules HepaRG exposées au glyphosate à 600 µM, ne montre pas de modifications par rapport au contrôle alors que le GBH peut être 1 000 fois plus efficace sur la réponse transcriptionnelle (Mesnage et coll., 2018).

Sur des cellules de Sertoli (lignée TM4) le Roundup Bioforce est plus toxique que le glyphosate avec un impact mitochondrial délétère dû au coformulant POEA (Vanlaeys et coll., 2018). Le coformulant POEA est rapporté génotoxique à des concentrations non toxiques pour les cellules et potentiellement reprotoxique (Efsa, 2015a). Malgré un manque de données de tests (court et long terme) toxicologiques, cet agent a été interdit[93].

Au-delà des modèles 2D, l'utilisation des nouveaux modèles 3D peut permettre de produire des résultats certes *in vitro* mais plus proches de la biologie cellulaire. Les effets du glyphosate ont ainsi été testés sur des organoïdes hépatiques révélant une cytotoxicité potentielle dès 42,3 mg/l (0,25 mM). Ce seuil est à 423 mg/l (2,5 mM) pour des organoïdes cardiaques avec des IC_{50} sur la production d'ATP (révélateur de la viabilité cellulaire) de l'ordre de 1 690 mg/l (10 mM) et des perturbations des battements des organoïdes cardiaques à partir de 42,3 mg/l (0,25 mM) (Forsythe et coll., 2018). Ces résultats sont relativement cohérents avec ceux obtenus *ex vivo* par Gress et coll. qui ont étudié les effets du Roundup, à des concentrations équivalentes à celles mesurées dans le sang suite à une intoxication aiguë, et du glyphosate sur la fonction cardiaque (rats mâles, lapines). Des dysfonctions cardiaques (arythmies, défauts de conduction) ont en effet été rapportées dans cette étude (Gress et coll., 2015).

Mitotoxicité

La mitotoxicité, ou perturbations de la fonction mitochondriale, conduisant par exemple à une apoptose ou à la génération d'espèces oxygénées réactives (ERO ou ROS), est associée à de nombreuses pathologies comme évènements

93. Commission européenne 2016/1313, règlement d'exécution paru au JO de l'UE du 2 août.

initiateurs ou contributeurs. Différents essais évaluant la mitotoxicité *in vitro* ou *in vivo* sont classiquement utilisés par les laboratoires académiques mais il n'existe pas de systèmes validés par les instances réglementaires. Les résultats de ces études sont présentés ci-dessous.

Une exposition de *Caenorhabditis elegans*, un nématode (petit ver transparent non parasitaire), pendant 24 h au GBH TouchDown (52,3 % glyphosate) provoque une inhibition de la respiration mitochondriale associée à une perturbation du gradient de proton et une diminution de production d'ATP (Bailey et coll., 2018). Cette inhibition de respiration est accompagnée de la production d'H_2O_2 (une espèce réactive de l'oxygène) mais à une dose d'exposition de 9,8 % de glyphosate, concentration plus élevée que la dose d'utilisation en traitement au champ (0,4 à 2,2 %) (Bailey et coll., 2018) mais de l'ordre de la valeur de la CL_{50} en exposition aiguë (Negga et coll., 2011).

Le GBH Scout (720 g/kg glyphosate) impacte le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale en inhibant les complexes I et IV et induisant une hyperpolarisation membranaire des mitochondries du système nerveux central dès 0,065 mg/l de glyphosate (7 jours d'exposition) chez *Danio rerio* (le poisson zèbre) (Pereira et coll., 2018). L'inhibition des complexes I et IV provoque la formation de ROS responsables de l'effet neurotoxique (Abramov et coll., 2010). Ainsi, dès 0,065 mg/l (soit une dose inférieure à 0,12 mg/l, concentration génotoxique chez *Oreochromis niloticus* et correspondant à des doses de 0,3 µM), les poissons montrent un changement comportemental et à 1 mg/l ils restent au fond de l'aquarium. Cette modification du comportement des poissons a déjà été observée (Bridi et coll., 2017).

Une diminution de l'activité mitochondriale ainsi que celle de plusieurs glutathion-S-transférases est observée avec une lignée hépatocytaire de poisson zèbre (ZF-L) pour des doses d'exposition du Roundup et glyphosate respectivement de 0,65 et 3,25 mg/l (Lopes et coll., 2018).

En résumé, une toxicité mitochondriale peut être observée avec des doses environnementales (0,065 mg/l étant une valeur inférieure à la plus forte concentration détectée dans les eaux de surface 0,070 mg/l). Il existe un décalage temporel entre les questionnements fondamentaux de la biologie sur les mécanismes d'action de toxicité, en particulier sur la mitotoxicité, et les outils validés par les agences réglementaires qui pourrait expliquer pour partie certaines controverses, en particulier sur le glyphosate.

Cancérogenèse

Il convient en premier lieu de définir si le composé peut influencer l'initiation et/ou la promotion tumorale (s'il influence les deux, on parle de cancérogène complet). En second lieu, l'analyse de la cancérogénèse ne se limite pas à la génotoxicité (associée à l'initiation) et doit être évaluée sur la base d'effets non génotoxiques (comme c'est le cas avec la prolifération cellulaire d'un clone cancéreux ou étape de promotion tumorale).

Sur le plan mécanistique en lien avec la génotoxicité, une étude originale menée à l'aide de deux lignées cellulaires humaines (BEAS-2B, épithéliale bronchique humaine ; SHSY-5Y neuronale) a mis en évidence une inhibition d'activité de réparation à l'ADN après une exposition (10-100 µM, 24 h) au glyphosate (Alleva et coll., 2016). Un extrait de miel riche en polyphénols (support d'une activité anti-oxydante) restaure l'activité mitochondriale et inhibe la formation de ROS dans les deux lignées cellulaires.

Chez la souris, une étude protéomique réalisée sur le modèle de carcinogenèse cutanée sur une durée de 32 semaines (avec différentes conditions de traitement, agents initiateurs, promoteurs...) montre que le glyphosate n'a pas d'effet initiateur ou complet propre. Par contre, associé à un agent initiateur, il présente un effet promoteur à des doses beaucoup plus faibles que celles préalablement testées (25 mg/kg pc ; deux fois par semaine), d'autant que le profil protéomique modifié par le glyphosate ressemble à celui du 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA), un ester de phorbol modèle utilisé comme agent promoteur (George et coll., 2010). Malgré l'effet génotoxique rapporté précédemment en rapport avec un stress oxydatif, un effet promoteur tumoral pourrait être envisagé et reposerait sur d'autres mécanismes.

Le glyphosate est-il un composé œstrogéno-mimétique ?

Dès le début des années 2000, Lin et coll. ont étudié différents paramètres cellulaires après traitement par le Roundup et le glyphosate sur la lignée cellulaire humaine MCF-7. Ils ont observé que le glyphosate stimule la prolifération des cellules dès 0,228 mg/l et le Roundup dès 1 mg/l, indépendamment d'un effet de stimulation œstrogénique classique (les concentrations qui entraînent une prolifération maximale étaient respectivement de 2,28 mg/l et 10 mg/l) (Lin et Garry, 2000). La question des propriétés œstrogéniques du glyphosate a donc été posée de façon récurrente dans plusieurs études comme celle de Hokanson et coll., qui par une analyse « *microarrays* » également réalisée avec des MCF-7, montre une modification de l'expression

de gènes sensibles aux œstrogènes après exposition au glyphosate 15 mg/l[94] pendant 18 h en présence ou non d'estradiol (3 x 10^{-10} M) (Hokanson et coll., 2007). Ces résultats sont à mettre en parallèle avec ceux de Thongprakaisang et coll. en 2013 qui montrent que le glyphosate, dès 0,169 ng/l (10^{-12} M), induit un effet prolifératif dans la lignée mammaire humaine T47D (lignée cellulaire de cancer du sein hormonodépendant) probablement en lien avec une stimulation de la voie des œstrogènes (car non observée dans la lignée ER-négatif MDA-MB-231, une lignée cellulaire de cancer du sein non hormono-dépendant) (Thongprakaisang et coll., 2013). Une étude récente rapporte un effet sur des marqueurs de la prolifération du glyphosate dès 10^{-11} M (1,69 ng/l) testé sur des lignées de cholangiocarcinomes exprimant ou non le récepteur aux œstrogènes ERα. L'effet prolifératif (augmentation des cellules en phase S) est observé sur des cellules exprimant ERα avec une prolifération cellulaire bloquée par un agent antagoniste de ERα (Sritana et coll., 2018). Des cellules MDA-MB-468 (ER-négatif) et MCF-7 (ER-positive) ont été exposées à 186 mg/l (1,1 mM) de glyphosate sous forme de Roundup Original ou à 1 110 mg/l (10 mM) d'AMPA pendant 48 h afin d'analyser le transcriptome (Stur et coll., 2019). Le Roundup et l'AMPA induisent une dérégulation de gènes œstrogéno-dépendants et de onze réseaux de régulation, parmi lesquels le cycle cellulaire et la réponse aux dommages de l'ADN pour les cellules triple négatives.

Compte tenu de l'importance de la dose en toxicologie, il peut être intéressant de comparer les résultats obtenus à des doses beaucoup plus élevées : le glyphosate, mais pas les composants utilisés pour les GBH (certains connus comme le POEA et d'autres inconnus en raison du secret de fabrication des formulations), peut activer ERα à forte concentration (Mesnage et coll., 2017). Li et coll. ont testé l'influence du glyphosate à des concentrations entre 15 et 50 mM (2 535 et 8 450 mg/l) sur la croissance de 8 lignées cellulaires et identifient des inhibitions de croissance pour certaines dès 15 mM, phénomène non observé sur deux lignées épithéliales prostatiques normales mais immortalisées (Li et coll., 2013). Ceci est aussi observé avec l'AMPA, avec un même intervalle de concentrations (Parajuli et coll., 2015). Des processus apoptotiques sont aussi stimulés par l'AMPA dès 50 mM (5 552 mg/l) (Li et coll., 2013). Ces études ont été conduites avec des modèles cellulaires différents et suggèrent que le glyphosate activerait le récepteur aux œstrogènes, une voie d'activation associée à la prolifération cellulaire. De plus l'« effet dose » semble jouer ici un rôle prédominant avec une activation de ERα observée à forte dose (Mesnage et coll., 2017).

94. La dose est calculée en considérant une solution de glyphosate à 15 %.

Par ailleurs, au-delà des effets passant par les récepteurs aux œstrogènes, plusieurs études rapportent un effet inhibiteur sur l'aromatase du glyphosate : le Roundup Bioforce a été testé sur les lignées de cellules embryonnaires 293 et placentaires (choriocarcinome) JEG-3 pour évaluer une potentielle activité hormonale (Benachour et coll., 2007). Le Roundup Bioforce à la dilution de 0,01 % (égale à 35,5 mg/l ou 210 µM de glyphosate) pendant 24 h exerce un effet inhibiteur de l'activité aromatase, enzyme chargée de la transformation de certains précurseurs androgéniques en œstrogènes. Un effet inhibiteur de l'aromatase, a aussi été rapporté sur des cellules JEG3 *in vitro* suite à une exposition à deux GBH différents (Glyphos et Médallon) et aux ingrédients : glyphosate et surfactants. Les concentrations utilisées sont 1,2 à 3 fois inférieures aux NOEC (*No Observed Effect Concentration*, dose sans effet) du Glyphos (75 mg/l) et Médallon (500 mg/l). Le glyphosate (NOEC = 3 100 mg/l) seul n'a pas d'effet alors que les co-formulants et les GBH inhibent l'aromatase de 25 à 40 %, ce qui est en faveur d'un effet des coformulants et non du glyphosate (Defarge et coll., 2016). L'effet inhibiteur (IC_{50}) du glyphosate sur l'aromatase est observé sur des cellules JEG3 et sur une préparation microsomale *in vitro* pour une concentration de Roundup de 0,04 % (équivalent à 144 mg/l de glyphosate) et 0,6 % (équivalent à 2,16 g/l de glyphosate), respectivement. Le Roundup testé sur les préparations microsomales est 4 fois plus actif que le principe actif (à concentration équivalente en glyphosate, probablement du fait de la présence de coformulants) (Richard et coll., 2005).

Ces résultats sont intéressants car ils suggèrent des effets pro-œstrogéniques via les récepteurs aux œstrogènes constatés à de fortes mais aussi à de faibles doses. L'inhibition de l'aromatase ajoute un élément complexe à l'interprétation des données qui peut être éclairé par les informations qui suivent.

Qu'en est-il du mécanisme d'action biochimique et d'une liaison directe avec ERα ?

La recherche d'une interaction entre le glyphosate et les voies de régulation des hormones sexuelles a été évalué par l'EPA sur la base de la série de tests EDSP niveau I (*Endocrine Disruptor Screening Program*) aboutissant à un résultat négatif pour les récepteurs aux œstrogènes, androgènes et thyroïdiens (EPA, 2015). Une étude récente rend compte du même résultat en excluant une liaison du glyphosate au récepteur ERα. Elle suggère en revanche une activation de ce récepteur par des mécanismes non génomiques (Mesnage et coll., 2017). Dans cette étude, menée à l'aide de systèmes rapporteurs et d'outils à grande échelle (omiques), les auteurs montrent que le glyphosate n'est probablement pas un ligand efficace du récepteur aux œstrogènes α

mais favorise bien néanmoins une voie de transactivation non-œstrogénique (protéine kinase A). Plus précisément, le glyphosate stimule la prolifération des MCF-7 et T47D à 59 µM (> 10 mg/l).

Si on tient compte de l'ensemble de ces résultats, le glyphosate et les GBH pourraient activer la voie de signalisation du ERα, par le biais de mécanismes n'impliquant pas une liaison au récepteur (œstrogéno-indépendant, ERα-dépendant), ce qui serait cohérent avec l'inhibition de l'aromatase qui est aussi observée. Ces effets sont aussi cohérents avec d'éventuelles propriétés de promoteur tumoral.

Le glyphosate est-il un perturbateur endocrinien ?

Si le potentiel cancérogène du glyphosate reste une question ouverte, les quelques résultats récents en épidémiologie et génotoxicité ne permettent pas de conclure. Le fait de centrer la polémique sur un potentiel effet cancérogène pourrait occulter d'autres mécanismes possibles de toxicité, en particulier un effet de perturbation endocrinienne.

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des substances capables d'interférer avec le système hormonal. Depuis 2017 (règlements UE 2017/2100 et UE 2018/605), une substance phytopharmaceutique est identifiée comme PE si : *i*) la substance ou un mélange de substances a un mode d'action qui altère les fonctions du système endocrinien ; *ii*) elle produit un effet indésirable chez un organisme intact ou ses descendants ; et *iii*) l'effet indésirable est une conséquence de ce mode d'action.

Bien que les données de la littérature soient contradictoires, l'Efsa a publié en 2017 (Efsa, 2017) que le glyphosate n'était probablement pas un PE, laissant cependant le débat ouvert. Cette analyse reposait pour partie sur les résultats négatifs suivants :

- le test *EDSP niveau 1* de l'EPA aboutissait à un résultat négatif (EPA, 2015) ;
- pas d'effet sur la stéroïdogenèse sur la lignée MA-10 de souris (Forgacs et coll., 2012) ;
- pas d'effet sur la synthèse de vitellogénine (Xie et coll., 2005) ;
- pas d'effet sur la régulation de PXR dans les cellules COS-7 (Kojima et coll., 2011) ni sur le récepteur Ah dans les cellules Hepa1c1c7 (Takeuchi et coll., 2008).

Ces différents tests ne permettent pas de déterminer si d'autres voies de signalisation hormonale sont perturbées. Ainsi, nous avons décrit plus haut

que le glyphosate semble présenter des propriétés d'activation œstrogénique sans liaison directe au récepteur ERα. Ainsi, la littérature récente suggère un mode d'action PE qui pourrait agir au niveau des fonctions développementales ou de reproduction.

Perturbation du développement en lien avec une dérégulation hormonale

Le glyphosate et les GBH affectent différentes fonctions de l'organisme : métabolisme, fonctions reproductrices, système nerveux... En 2010, un effet du GBH (Roundup Classic, contenant 48 % de sel de glyphosate) est rapporté sur le développement de la grenouille et du poulet (Paganelli et coll., 2010) ; cet effet semble être lié à une perturbation du système rétinoïque ; en effet, le GBH entraîne une altération du développement de la crête neurale, qui peut être médiée par une augmentation de l'acide rétinoïque endogène puisque des antagonistes du récepteur de l'acide *trans*-rétinoïque sont capables de réverser l'effet tératogène du glyphosate. D'autres expériences rapportent une embryotoxicité chez des rates exposées au GBH pendant la grossesse (Dallegrave et coll., 2003 ; Dallegrave et coll., 2007).

Perturbation de la fonction de reproduction

Beaucoup d'études ont testé un potentiel effet du glyphosate ou plus fréquemment des GBH sur la reproduction, principalement chez les rongeurs.

- ***Effet du glyphosate et des GBH chez les mâles***

Une altération des spermatozoïdes est retrouvée dans plusieurs études utilisant différents modèles cellulaires (rats, humains) et *in vivo* (souris, rats).

Une récente méta-analyse réalisée à l'aide d'études sur un ensemble de rongeurs, conclut à une association entre l'exposition au glyphosate et la diminution de la concentration de spermatozoïdes (- 2,774 x 10^6/spermatozoïdes/g/testicule ; IC 95 % [- 0,969 à - 4,579]) (Cai et coll., 2017). Celle-ci est complétée par des études récentes avec du glyphosate ou différentes formulations de GBH et les trois espèces pré-décrites ; ainsi, un dysfonctionnement des fonctions reproductives est observé chez des rats exposés par voie orale pendant 12 semaines au Roundup contenant du glyphosate sous la forme de sel de potassium à des doses de 3,6, 50,4 et 248,4 mg/kg pc/j (Owagboriaye et coll., 2017). Une diminution du taux de testostérone, de l'hormone lutéinisante (LH), de l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et une augmentation du taux de prolactine sont rapportées ainsi qu'une réduction de la concentration de spermatozoïdes et de leur mobilité, et une augmentation du pourcentage d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes. Ces résultats sont

cohérents avec ceux d'une autre étude plus ancienne dans laquelle l'exposition de rates gravides au GBH à des doses de 50, 150 ou 450 mg/kg de glyphosate pendant la gestation (21-23 jours) et la lactation (21 jours) n'induit pas de toxicité maternelle. En revanche, un effet adverse est observé sur la fonction de reproduction de la descendance mâle : diminution du nombre de spermatozoïdes, augmentation du nombre de spermatozoïdes anormaux et diminution du taux de testostérone sérique (Dallegrave et coll., 2007). Certains de ces effets pourraient être liés à une modification de la fonction non pas des spermatozoïdes, mais de cellules importantes pour leur développement : ainsi, une exposition aiguë au Roundup Original (360 g/l) pendant 30 min induit un stress oxydant et active des réponses multiples dont une mortalité de cellules de Sertoli dans des testicules de rats prépubères (De Liz Oliveira Cavalli et coll., 2013). Cet effet est retrouvé avec le glyphosate aux mêmes conditions d'exposition et contrecarré par un prétraitement avec des antioxydants. Plus récemment, des souris gestantes ont été exposées au Roundup 3 Plus ou au glyphosate dans l'eau de boisson aux doses de 0,5 (correspondant à la DJA), 5 et 50 mg/kg/j du jour embryonnaire 10,5 à 20 jours post-partum. Les résultats montrent chez la descendance mâle (sacrifiés à 5, 20, 35 jours et 8 mois d'âge) que le nombre de spermatozoïdes diminue fortement aux doses de 0,5 et 5 mg/kg/j (GBH et glyphosate respectivement). Les spermatogonies indifférenciées diminuent en nombre de 60 % à la dose de 5 mg/kg/j dans le groupe glyphosate (Pham et coll., 2019). Par ailleurs, des souris exposées au Roundup (360 g/l de glyphosate et 18 % (masse/volume) de surfactant POEA) par gavage (concentrations de glyphosate de 60, 180 et 540 mg/kg pc/j) présentent une diminution de la mobilité et du nombre de spermatozoïdes ainsi qu'une augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes. Une apoptose excessive des cellules germinales est accompagnée d'une surexpression de XAF1[95] aux doses élevées de 180 et 540 mg/kg (Jiang et coll., 2018). Enfin, la mobilité et la fragmentation d'ADN de spermatozoïdes humains ont été testés *in vitro* suite à une exposition de 0,36 mg/l de glyphosate (Anifandis et coll., 2018a). La motilité est réduite après une heure d'incubation mais sans effet sur la fragmentation de l'ADN, un effet dont le mécanisme pourrait être dépendant d'un dysfonctionnement mitochondrial (Anifandis et coll., 2018b).

Une altération de la glande mammaire (compatible avec une altération des fonctions œstrogéniques) est également observée dans deux études : ainsi, des rats mâles exposés à la naissance au Roundup FULL II à 2 mg/kg de glyphosate par voie sous-cutanée tous les deux jours entre le premier et le septième jour après la naissance (*post-natal day* 1 à 7 ; PND1 à PND7), et

95. X-*linked inhibitor of apoptosis-associated factor* 1.

sacrifiés au PND21 ou PND60, présentent un développement de la glande mammaire avec une augmentation du stroma et des bourgeons terminaux à l'âge de 21 jours ainsi qu'une infiltration de mastocytes à 60 jours (féminisation) (Altamirano et coll., 2018). Lors d'une exposition de rates gravides à un GBH (3,5 ou 350 mg/kg pc/j) du 9e jour de gestation jusqu'au sevrage, une atrophie du développement de la glande mammaire est notée chez les descendants mâles à PND60 (Gomez et coll., 2019). Ces effets sont certes différents, mais les protocoles d'exposition sont très différents tout comme l'intervention des systèmes hormonaux en fonction des différents stades. Ainsi, la perturbation du processus de masculinisation est aussi observée suite à une exposition pendant la grossesse au GBH, chez des rats nouveau-nés qui présentent à l'âge adulte une hypersécrétion d'androgènes et une augmentation d'activité des gonades (Romano et coll., 2012).

- ***Effet du GBH chez les femelles***

L'exposition de rates au GBH (Roundup FULL II ; 2 mg/kg pc/j de glyphosate) par voie sous-cutanée en période post-natale (PND1 à 7) augmente la prolifération cellulaire de l'utérus à PND8 mais non à PND21 (Guerrero Schimpf et coll., 2017). La voie ERα est ainsi activée à PND8 dans le compartiment stromal et réprimée à PND21 dans le compartiment luminal. Par ailleurs, quand les rates sont ovariectomisées à PND21 et traitées avec le 17β-œstradiol jusqu'à PND60, une hyperplasie de l'épithélium utérin est observée chez les rates exposées au GBH pendant la première semaine après la naissance suggérant qu'une exposition précoce au GBH augmente la sensibilité de l'utérus à l'œstradiol (Guerrero Schimpf et coll., 2018). Ces résultats sont compatibles avec l'hypothèse mécanistique d'une stimulation œstrogénique (bien qu'indépendante d'une liaison au ERα, voir plus haut).

Parmi les mécanismes qui pourraient être proposés pour expliquer ces dysfonctionnements, une modification de la stéroïdogenèse (ou des hormones la régulant) peut être suspectée du fait de données expérimentales rapportées par plusieurs études.

Comme décrite précédemment, une diminution du taux de testostérone, de la LH, de la FSH et une augmentation du taux de prolactine (associées à une réduction de la concentration de spermatozoïdes et de leur mobilité) sont constatées chez des rats mâles exposés par voie orale pendant 12 semaines au Roundup (Owagboriaye et coll., 2017). Plus récemment, une étude à long terme montre à la fois des effets des GBH et du glyphosate. Dans cette étude, des rates sont exposées soit à 1,75 mg/kg pc/j de glyphosate (pur à > 99,5 %) ou à la même dose de matière active sous la forme de Roundup Bioflow (41,5 % glyphosate sel d'isopropylamine) dans l'eau de

boisson à partir du 6e jour de gestation jusqu'à PND120 (Manservisi et coll., 2019). Cette exposition provoque une altération du système endocrinien chez la descendance, accompagnée : *i*) d'une augmentation de la distance ano-génital à PND4 chez les mâles et les femelles traités au Roundup et chez les mâles traités au glyphosate ; *ii*) d'un retard de l'âge du premier œstrus et une augmentation de la concentration de testostérone chez les femelles (qui est logique avec les effets d'inhibition de l'aromatase précédemment décrits) ; *iii*) d'une augmentation de la concentration plasmatique de TSH chez les mâles traités au glyphosate ainsi qu'une diminution de dihydrotestostérone et une augmentation de BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) chez les mâles traités au Roundup. Dans l'étude de Pham et coll., l'exposition de souris gestantes au Roundup 3 Plus ou au glyphosate dans l'eau de boisson aux doses de 0,5 (correspondant à la DJA), 5 et 50 mg/kg/j à partir du jour embryonnaire 10,5 jusqu'aux 20 jours après la mise bas, montre chez la descendance mâle (sacrifiés à 5, 20, 35 jours et 8 mois d'âge) que l'exposition au glyphosate mais non au GBH, affecte d'une part le poids (diminution) des testicules et la morphologie de l'épithélium des tubes séminifères à 20 jours et d'autre part diminue la concentration sérique de testostérone à 35 jours. Chez les souris de 8 mois, une diminution du niveau de testostérone est observée dans le groupe GBH (Pham et coll., 2019). Enfin, l'exposition de la lignée MA-10 (cellules de Leydig de souris) au Roundup conduit à une inhibition de la stéroïdogenèse à une concentration non cytotoxique alors que le glyphosate n'a pas d'effet. Ce résultat illustre de nouveau la plus forte toxicité des formulations et indique que des agents ont une activité PE (Walsh et coll., 2000).

- ***Qu'en est-il d'un effet du glyphosate ou des GBH sur la fonction de reproduction ?***

Des GBH ont été utilisés dans la majorité de ces études d'où la question sur la contribution du glyphosate aux perturbations constatées. En outre, les formulations peuvent présenter des toxicités variables sans rapport avec la concentration en glyphosate comme il a été rapporté sur des systèmes invertébrés (Niemeyer et coll., 2018). Est-ce un effet spécifique de certains coformulants, un effet mélange entre les composés dont le glyphosate ? Ceci est à rapprocher de publications plus anciennes indiquant que le mode d'action PE pourrait ne pas être relié au seul principe actif mais plutôt aux coformulants (Mesnage et coll., 2013 ; Defarge et coll., 2016). En fait, plusieurs études rapportent à la fois des effets du glyphosate et des GBH. L'étude de Manservisi et coll. dans laquelle des rates sont exposées soit à 1,75 mg/kg pc/j de glyphosate (pur à > 99,5 %) soit la formulation Roundup Bioflow (41,5 % glyphosate) dans l'eau de boisson à partir du 6e jour de gestation jusqu'à

120 jours après la mise bas, montre que chaque traitement altère le système endocrinien (avec certes des différences mais aussi des points communs comme une modification de la distance ano-génital chez les mâles) (Manservisi et coll., 2019).

De même, l'étude de Pham et coll. montre que l'exposition de souris gestantes au Roundup 3 Plus ou au glyphosate dans l'eau de boisson aux doses de 0,5 (correspondant à la DJA), 5 et 50 mg/kg/j de E10,5 à 20 jours post-partum, montre une diminution du nombre de spermatozoïdes (Pham et coll., 2019).

En résumé, un mode d'action PE est observé suite à une exposition aux GBH mais aussi au glyphosate à des doses faibles, c'est-à-dire inférieures à 50 mg/kg/j (valeur correspondant à la NOAEL chez le rat). Des effets phénotypiques de PE par le GBH et le glyphosate sont fortement suspectés à la suite des nombreuses études menées sur la fonction androgénique et œstrogénique mais avec des effets complexes, qui pourraient s'expliquer par exemple pour les œstrogènes à la fois par leur action sur l'aromatase (anti-œstrogénique) et par l'hypersensibilisation à l'action de l'œstradiol (pro-œstrogénique).

Effets intergénérationnels et modifications épigénétiques

Les études épigénétiques permettent de déterminer les mécanismes d'action modifiant de manière réversible, transmissible et adaptative, l'expression des gènes sans en changer la séquence nucléotidique (c'est-à-dire celle de l'ADN). Ce type de modification par exemple au niveau d'un promoteur de gènes, peut conduire à son extinction ou à l'inverse à son expression. Bien que grandement débattue, la possibilité d'une transmission au travers des générations de ce type de modifications, est de plus en plus acceptée. Au niveau expérimental, il devient de plus en plus fréquent de trouver des publications explorant l'effet d'un contaminant utilisé pour traiter la génération 0 (et seulement celle-ci) au stade gestationnel, au-delà de la 3^{e} génération, qui n'a donc jamais vu le contaminant, contrairement aux générations F1 (fœtus exposés) ou F2 (gamètes du fœtus exposés). C'est dans ce contexte que les effets du glyphosate et des GBH commencent à être explorés.

Une étude de 2018 montre que des rates (F0) exposées par voie orale à 2 ou 200 mg/kg pc/j de glyphosate sous forme de GBH (Magnum Super II contenant 66,2 % de glyphosate sel de potassium) entre le 9^{e} jour de gestation et le jour du sevrage (21 jours après la naissance) ne présentent pas d'effet toxique aux deux doses testées sur les caractéristiques reproductives (durée de gestation, taille de la portée, poids de naissance...). L'exposition à

2 mg/kg pc/j de glyphosate de la mère (F0) induit une anomalie de la fonction reproductive (diminutions des sites d'implantation, fausses couches) pour la génération F1. Dans la génération F2, sont observés des retards de croissance fœtale et des anomalies du développement (malformations fœtales) (Milesi et coll., 2018). Cette héritabilité suggère un effet intergénérationnel qui pourrait s'expliquer par l'exposition au GBH *in utero* pour la génération F1, ou de leurs cellules germinales (pour la génération F2) (figure 19.3). Cependant, il aurait été intéressant dans cette étude d'examiner la génération F3 afin de potentiellement identifier des effets en absence d'exposition au GBH (des effets dits « transgénérationnels »).

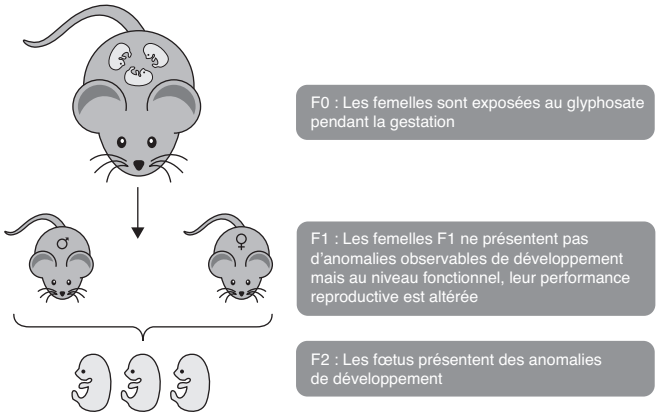


Figure 19.3 : Effets intergénérationnels d'un polluant environnemental : exemple du glyphosate

L'effet intergénérationnel laisse supposer une transmission d'information épigénétique (c'est-à-dire n'impliquant pas d'altération de la séquence de l'ADN) liée à l'exposition au GBH. Les processus impliqués dans la régulation épigénétique incluent les modifications post-traductionnelles des histones, de la structure de la chromatine, la méthylation de l'ADN, les ARN non codants et la méthylation des ARN. Trois études récentes viennent étayer certains de ces mécanismes.

Dans l'objectif de mieux comprendre les mécanismes biologiques sous-tendant ces résultats, les mêmes auteurs ont exposé des rates gravides (F0) à 350 mg/kg pc/j de glyphosate (sous la forme de GBH Magnum Super II) par voie orale pendant la gestation et la lactation. Leurs descendants femelles (F1) ont été accouplées et sacrifiées au 5^{e} jour de gestation (stade préimplantatoire). Les utérus sont collectés et il est observé une diminution de la méthylation du promoteur du ERα ainsi que des modifications post-traductionnelles des histones en parallèle d'une augmentation du niveau de

messager de ERα (Lorenz et coll., 2019). Cette diminution de la méthylation du promoteur du ERα pourrait conduire à une augmentation d'expression du récepteur ce qui expliquerait l'augmentation de sensibilité vis-à-vis des œstrogènes, phénomène décrit ci-dessus bien que dans un autre contexte.

Des rates (F0) ont été exposées au glyphosate entre les jours 8 et 14 de gestation à une dose de 25 mg/kg pc/j par voie intra-péritonéale. La F1 (exposition fœtale) produit une F2 (exposition des cellules germinales) laquelle engendre une génération F3 (aucune exposition au glyphosate). Les différentes générations sont euthanasiées à l'âge d'un an et l'analyse des évènements épigénétiques des spermatozoïdes est conduite. Les profils de méthylation de l'ADN (*Differentially Methylated Regions* ; DMR) sont différents pour les F1, F2 et F3 en comparaison du contrôle F0. La majorité des DMR n'est pas associée aux gènes, mais aux régions intergéniques. Parmi les gènes associés aux DMR, ils sont majoritairement impliqués dans la signalisation, le métabolisme, les récepteurs et les cytokines (Kubsad et coll., 2019 ; Ben Maamar et coll., 2020). Il n'est pas observé d'augmentation de fréquence de pathologies pour les F0 et F1 alors que cette fréquence augmente pour F2 et F3. Ce résultat suggère une héritabilité épigénétique transgénérationnelle.

Le glyphosate induit une diminution globale de la méthylation de l'ADN pour les lymphocytes périphériques exposés *in vitro* à 42,3 mg/l (0,25 mM) de glyphosate (Kwiatkowska et coll., 2017). Aux concentrations de 0,25 et 0,5 mM, le glyphosate augmente la méthylation du promoteur de p53 sans changement pour le promoteur de p16.

En résumé, un mode d'action épigénétique du glyphosate et des GBH est observé dans plusieurs études dont une pour des valeurs d'exposition inférieures à la NOAEL sur une dose d'exposition courte.

Effets neurotoxiques

Il a été rapporté qu'une exposition aux GBH pouvait affecter le développement et la physiologie de vertébrés (Dallegrave et coll., 2007 ; Paganelli et coll., 2010 ; Zhang et coll., 2017). Parmi les perturbations induites par le glyphosate, des altérations de l'homéostasie du système nerveux central (SNC) et du comportement, sont discutées.

Des études récentes montrent ainsi que des GBH induisent une altération de concentration de plusieurs neurotransmetteurs comme la dopamine, la norépinephrine, la sérotonine ou le glutamate dans différentes régions cérébrales telles que l'hippocampe, la substance noire et le cortex préfrontal chez des rongeurs (Hernandez-Plata et coll., 2015 ; Cattani et coll., 2017 ;

Gallegos et coll., 2018 ; Yu et coll., 2018). Cependant les doses d'exposition sont souvent élevées (> 50 mg/kg/j) et les effets du glyphosate *versus* les GBH, sont rarement comparés dans la même étude. Ainsi, Cattani et coll. ont montré un effet de stress oxydant (déplétion du pool de glutathion réduit (GSH), diminution de l'expression des GST et SOD dans les cellules de l'hippocampe) affectant la neurotransmission cholinergique et glutamatergique chez des rats (PND15 ou PND60) dont les mères ont été exposées à 1 % GBH dans l'eau de boisson (correspondant à 0,36 % de glyphosate soit 3 600 mg/l ; une souris de 35 g boit environ 5 ml par jour donc elle est exposée à une dose de 18 mg/j ou 514 mg/kg/j) à partir du 5^{e} jour de gestation jusqu'au jour 15 ou 60 après la mise bas (donc F1 exposés continuellement pendant la gestation et la durée de vie via lactation et boisson) (Cattani et coll., 2017). Les effets neurotoxiques du GBH sont accompagnés d'un état dépressif et d'une diminution de mobilité. Ceci permet de noter que ces diminutions de concentrations des neurotransmetteurs pourraient expliquer les déficits locomoteurs ou un syndrome d'anxiété-dépression également observés dans d'autres études récentes, chez des rongeurs exposés au glyphosate ou au GBH (Bridges, 2016 ; Ait Bali et coll., 2017 ; Cattani et coll., 2017 ; Ait Bali et coll., 2018 ; Gallegos et coll., 2018).

Par ailleurs, d'autres modèles sont désormais utilisés dans ce domaine de la neurotoxicologie des GBH et du glyphosate. Ainsi, Pereira et coll. ont montré chez le poisson zèbre qu'une altération de la chaîne respiratoire mitochondriale (complexes I et IV) de certains neurones était induite par une exposition au glyphosate ou GBH (doses 0,065, 1,0 et 10,0 mg/l) (Pereira et coll., 2018). Il est largement accepté qu'un stress oxydatif et/ou une perturbation de la physiologie mitochondriale participent au développement de pathologies neurodégénératives (Rugarli et Langer, 2012). De manière cohérente avec ce constat, un effet neurocomportemental est observé chez le poisson zèbre après 7 jours à la plus faible dose d'exposition de GBH (0,065 mg/l) correspondant à une activité exploratoire seulement en surface de l'aquarium en comparaison du groupe contrôle (Pereira et coll., 2018). Par ailleurs, chez des larves (après 3 jours post-fertilisation) et des adultes exposés à 0,01, 0,065 et 0,5 mg/l de glyphosate ou Roundup pendant 96 h, il est observé une diminution de la locomotion chez les adultes (exposés à 0,5 mg/l de glyphosate et 0,065 ou 0,5 mg/l de Roundup), une altération de la mémoire chez les adultes (exposés à 0,5 mg/l de Roundup) et une diminution de la distance interoculaire pour les larves (exposées à 0,5 mg/l de glyphosate). De plus, l'exposition au glyphosate et Roundup réduit le comportement agressif des adultes (Bridi et coll., 2017).

Logiquement, ces études se sont concentrées sur les effets du glyphosate ou des GBH sur le développement du cerveau de la descendance suite à une exposition périnatale en raison de la neuroplasticité du SNC au cours du développement. Néanmoins, récemment, une étude a considéré l'exposition de rates au glyphosate ou Roundup 3 Plus à faible dose de glyphosate (5 mg/kg pc/j soit le 1/10^{e} de la NOAEL) du 10^{e} jour de gestation jusqu'au 21^{e} jour post-partum (PND21) (Dechartres et coll., 2019). Cette faible dose d'exposition affecte le comportement de léchage de la mère ainsi que la neurogenèse en période post-partum illustrée par une augmentation de la population de neurones immatures post-mitotiques dans le gyrus denté dorsal. Bien qu'un effet neurotoxique direct n'ait pas été démontré, il est intéressant de noter que le glyphosate ou la formulation modifient le rapport *Bacteroïdetes* et *Firmicutes* du microbiote intestinal de la mère.

À propos des mécanismes inducteurs d'effets neurotoxiques, la propriété chélatrice de métaux du glyphosate a très peu été étudiée et pourrait contribuer à la neurotoxicité observée avec différents modèles expérimentaux (Mertens et coll., 2018).

Ces effets neurotoxiques plus marqués avec le GBH en comparaison du glyphosate, sont associés à une dysbiose du microbiote intestinal. Le lien entre dysbiose du microbiote intestinal (avec ces bactéries exprimant l'EPSPS) et de nombreuses pathologies incluant le cancer et les maladies psychiatriques (Galland, 2014 ; Kosumi et coll., 2018) devraient inciter à tester plus en détail l'effet du glyphosate sur les populations microbiennes.

Le glyphosate induit-il une dysbiose du microbiote intestinal ?

Le glyphosate est utilisé chez les plantes pour son activité inhibitrice de la voie shikimate, voie de biosynthèse qui est retrouvée chez de nombreuses bactéries avec en conséquence un effet potentiel sur les microbiotes animaux ou environnementaux. Nous limiterons l'analyse aux microbiotes symbiotiques des animaux et en particulier le microbiote intestinal.

Un essai de toxicité *in vitro* du glyphosate sur le microbiote des poules avait pour objectif d'évaluer son impact sur les bactéries qui peuvent protéger de bactéries pathogènes (Shehata et coll., 2013). Les bactéries pathogènes comme *Salmonella enteritidis*, *S. gallinarum*, *S. typhimurium*, *Clostridium perfringens* et *C. botulinum* sont résistantes au glyphosate. En revanche, les bactéries protectrices comme *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Bacillus badius*, *Bifidobacterium adolescentis* et *Lactobacillus spp.* sont modérément ou hautement sensibles au glyphosate. On peut donc poser l'hypothèse que le

glyphosate en perturbant l'équilibre du microbiote prédispose à des pathologies en lien avec des dysbioses bactériennes.

Lors d'une fermentation *in vitro* du microbiote du rumen de bovin, il est observé l'induction d'une dysbiose par le glyphosate laquelle favorise le développement de *Clostridium botulinum* (bactérie pathogène, résistante au glyphosate, voir ci-dessus) et la production de la neurotoxine botulinique dans le rumen (Ackermann et coll., 2015).

Sur les modèles rongeurs, l'exposition au Roundup Grand Travaux Plus (450 g/l glyphosate) présent dans l'eau de boisson aux doses de 50 ng/l (0,1 ppb), 100 mg/l (400 ppm) ou 2 250 mg/l (5 000 ppm) induit une dysbiose du microbiote intestinal du rat avec une augmentation de la famille *Bacteroïdetes* et une diminution de la famille *Lactobacillaceae* (Lozano et coll., 2018). L'exposition des rats par voie orale à 1,75 mg/kg/j de glyphosate à partir du 6e jour de gestation jusqu'à 13 semaines n'altère pas la survie des animaux, le poids ou le comportement alimentaire (Panzacchi et coll., 2018). Les mêmes résultats sont obtenus pour une dose équivalente de glyphosate sous forme de Roundup Bioflow (contenant 41,5 % de glyphosate sel d'isopropylamine), ce qui correspondait, lors de la publication de l'étude, à la dose chronique de référence (*Chronic Reference Dose*) établie par l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis. En revanche, pour le même schéma expérimental, si des rates (F0) sont exposées à partir du 6e jour de gestation jusqu'au 125e jour après les naissances (PND125), les rats de la génération F1 présentent à PND31 (correspondant à la pré-puberté chez les humains) une modification importante de la composition du microbiote intestinal : le rapport *Bacteroïdetes/Firmicutes* est augmenté avec le glyphosate et le Roundup Bioflow (Mao et coll., 2018). Cette augmentation de la proportion de *Bacteroïdetes* est cohérente avec l'étude de Lozano et coll. Chez la souris, deux études montrent un effet perturbateur du Roundup sur le microbiote intestinal associé à un syndrome d'anxiété ou de dépression après exposition à des doses élevées (250 et 500 mg/kg pc/j) (Ait Bali et coll., 2017 ; Ait Bali et coll., 2018).

Ces effets rapportés sur des modèles animaux, mis en place pour étudier des mécanismes en rapport avec la santé humaine, ne doivent pas faire oublier la toxicité du glyphosate sur les écosystèmes. En effet, il a été quelques fois mentionné un effet toxique sur les insectes et tout particulièrement les abeilles. Des abeilles ont été exposées par voie orale (sirop) au glyphosate à 5 et 10 mg/l (Motta et coll., 2018), des doses qui correspondent à une exposition environnementale (Herbert et coll., 2014). L'exposition au glyphosate pendant la colonisation précoce de l'intestin augmente la mortalité des abeilles adultes lorsqu'elles sont exposées à des pathogènes opportunistes

(Motta et coll., 2018). Une exposition à une dose sub-létale de Roundup (Roundup Original-glyphosate/nourriture artificielle dans un rapport 2,16 mg/g) chez les nurses produit des modifications ultrastructurales des glandes hypopharyngées, une dégénérescence du réticulum endoplasmique et des changements structuraux des mitochondries de ces cellules. Cet impact sur l'histologie des glandes hypopharyngées a pour conséquence une altération de production de gelée royale avec un effet sur le développement et la survie des colonies d'abeilles (Faita et coll., 2018).

Enfin, les GBH pourraient ainsi favoriser la génération d'une co-résistance de bactéries coliformes au glyphosate et aux antibiotiques, une hypothèse récemment discutée (Kurenbach et coll., 2015 ; van Bruggen et coll., 2018). Cette hypothèse pose également la question d'un effet de sélection de plantes adventices résistantes au glyphosate mais aussi de modifications des microbiotes symbiotiques des plantes et animaux.

Conclusion

Le glyphosate est l'herbicide le plus utilisé dans le monde et le plus employé en France. Du fait de ses modalités et circonstances d'application, l'absorption cutanée est considérée comme la principale voie d'exposition chez les utilisateurs professionnels ou non. Par ailleurs, la contamination des denrées alimentaires peut entraîner l'exposition des consommateurs par voie orale. Le glyphosate est très peu métabolisé dans l'organisme (moins de 1 %) et il est éliminé dans les urines sous forme inchangée. Sans potentiel d'accumulation notoire, sa demi-vie chez l'être humain est estimée entre 5 et 10 h.

La quantification du glyphosate dans les urines représente la méthode la plus appropriée pour estimer et suivre au cours du temps l'exposition des populations. Néanmoins, cela exige des méthodes analytiques rigoureuses (techniques d'extraction, de séparation et de détection). Les concentrations urinaires fréquemment retrouvées dans les populations exposées professionnellement ou en population générale sont de l'ordre du µg/l. Ces valeurs sont inférieures d'un facteur 100 à 1 000 à celles attendues pour une exposition chronique correspondant à la DJA actuellement déterminée par l'Efsa, soit 0,5 mg/kg/j (Efsa, 2015a). Pour autant, cette valeur de référence, basée sur des données expérimentales chez l'animal de laboratoire, ne permet pas d'exclure tout risque chez l'être humain, en particulier lors d'expositions répétées et sur le long terme. C'est ainsi que de nombreuses études épidémiologiques se sont intéressées aux conséquences sanitaires des expositions professionnelles (et dans une moindre mesure dans des circonstances

d'exposition résidentielles) à des préparations à base de glyphosate. Ces études se sont intéressées à la survenue de pathologies tumorales et non tumorales.

En 2013, l'expertise collective Inserm avait conclu que l'exposition au glyphosate était associée à un excès de risque de lymphomes non hodgkiniens (LNH) avec une présomption faible d'un lien s'agissant des agriculteurs et une présomption de lien moyenne s'agissant des populations exposées professionnellement sans distinction de leur catégorie d'emploi. De nouvelles données ont été acquises depuis 2013. Le suivi de la cohorte AHS aux États-Unis n'a pas montré d'associations entre le fait d'appliquer du glyphosate dans un cadre professionnel et le risque de survenue de LNH ou de ses principaux sous-types. Néanmoins, une méta-analyse publiée par le consortium Agricoh, regroupant la cohorte AHS ainsi que deux autres cohortes de travailleurs agricoles (AGRICAN en France et CNAP en Norvège) et totalisant plus de 300 000 sujets dont 2 430 cas de LNH, a montré une association statistiquement significative entre le risque de survenue d'un lymphome diffus à grandes cellules B et l'exposition au glyphosate. De ce fait, la présomption de lien entre l'exposition au glyphosate et le risque de survenue de LNH a été considérée comme moyenne quelle que soit la catégorie d'emploi (agriculteur ou autres).

Concernant le myélome multiple, l'expertise collective Inserm 2013 n'avait pas pu établir de lien de présomption entre l'exposition au glyphosate et le risque de survenue de cette pathologie car les quelques études cas-témoins, françaises et nord-américaines, ainsi que la cohorte AHS s'appuyait sur un nombre de cas limité. Récemment, un nouveau suivi de la cohorte AHS n'a pas mis en évidence d'association avec le myélome multiple. Cependant, une méta-analyse reprenant des études cas-témoins antérieures y compris certaines données issues de la cohorte AHS a montré un risque augmenté, à la limite de la significativité statistique, chez des agriculteurs exposés au glyphosate. Tenant compte de ces nouvelles données, la présomption de lien au regard du risque de survenue du myélome multiple est considérée comme faible (±). Elle repose sur un faible niveau de preuves : risque élevé mais à la limite de la significativité statistique dans une méta-analyse de trois études cas-témoins et d'une cohorte.

Très peu d'informations étaient disponibles concernant l'exposition au glyphosate et la survenue de lymphome de Hodgkin lors de l'expertise collective Inserm de 2013. La littérature scientifique publiée depuis cette date est peu abondante avec trois études dont une méta-analyse (basée sur deux études cas-témoins antérieures) et un suivi de la cohorte AHS. Aucune association entre l'exposition au glyphosate et la survenue de lymphome de Hodgkin n'a

été observée. Au regard de ces résultats, aucune présomption de lien ne peut être établie.

En 2013, l'expertise collective Inserm rapportait une seule étude concernant l'exposition professionnelle au glyphosate et le risque de survenue de leucémies. Cette étude, basée sur la cohorte AHS, suggérait une augmentation du risque dans le deuxième tercile d'exposition au glyphosate. De ce fait, aucune présomption de lien n'a pu être établie et cette étude n'incluait pas les leucémies aiguës myéloïdes. Depuis 2013, deux méta-analyses ont été publiées à partir des données issues du consortium Agricoh et ont conclu à l'absence d'association avec le risque de survenue de leucémie lymphoïde chronique (LLC). Une troisième analyse a porté sur trois études cas-témoins et a également conclu à l'absence d'association avec la LLC. Deux des trois études cas-témoins ayant évalué le risque de survenue de leucémie à tricholeucocytes (un sous-type de LLC) ont montré une augmentation du risque, bien que non significative, en lien avec l'exposition au glyphosate. Un suivi récent de la cohorte AHS n'a pas confirmé la tendance à l'élévation de risque de LLC mise en évidence antérieurement. Enfin, ce nouveau suivi de l'étude AHS, à partir d'un nombre de cas limité, a pointé pour la première fois une augmentation de risque, de plus du double, de leucémie aiguë myéloïde chez les sujets les plus exposés, qui n'atteignait pas la signification statistique. Tenant compte tout particulièrement des derniers résultats de la cohorte AHS, la présomption de lien entre l'exposition au glyphosate et le risque de survenue de leucémies est considérée comme faible. Cette présomption repose sur une seule étude bien faite (cohorte AHS), nécessitant cependant d'être confirmée.

Le cancer de la prostate et le cancer de la vessie ont fait l'objet d'études en lien avec l'exposition au glyphosate au sein de la cohorte AHS. S'agissant du cancer de la prostate, les différents suivis de la cohorte au cours du temps n'ont pas montré d'excès de risque. Quant au cancer de la vessie, les auteurs ont constaté un excès de risque mais non statistiquement significatif. Actuellement et sur la base des études disponibles, il n'est pas possible d'établir une présomption de lien entre l'exposition au glyphosate et la survenue de cancers de la prostate et de la vessie.

Concernant les pathologies non tumorales, quelques études, majoritairement au sein de la cohorte AHS, indiquent que l'exposition professionnelle dans le secteur agricole à de multiples pesticides, dont le glyphosate, est associée à un risque augmenté de sifflements respiratoires (avec ou sans composante allergique) chez les hommes agriculteurs et applicateurs industriels et d'asthme allergique chez les conjointes applicatrices de pesticides. Compte tenu du nombre limité d'études et du fait que les résultats reposent

principalement sur une seule cohorte (AHS), la présomption de lien sur la santé respiratoire est qualifiée de faible.

D'autres travaux, provenant exclusivement de la cohorte AHS, ont signalé un excès de risque d'hypothyroïdie chez les hommes applicateurs de glyphosate, sans pouvoir mettre en évidence une relation dose-effet. Chez les conjointes, elles-mêmes applicatrices de glyphosate, aucune association avec le risque d'hypothyroïdie n'a été observée.

Finalement, différentes études se sont intéressées à la survenue de troubles anxio-dépressifs, de la maladie de Parkinson, de maladies rénales chroniques d'étiologie inconnue chez l'adulte, à la durée de grossesse, aux caractéristiques staturo-pondérales des nouveau-nés, à des malformations congénitales ou à la survenue de troubles neurocomportementaux chez le jeune enfant en lien avec une exposition professionnelle ou résidentielle au glyphosate. Cependant, la nature des études (écologiques), l'imprécision des mesures d'exposition, les faibles effectifs ou l'incohérence des conclusions, ne permettent pas à ce jour de conclure et donc d'établir de présomption de lien avec une exposition au glyphosate.

Qu'en est-il de la plausibilité biologique des associations observées ? De nombreuses études expérimentales ont été réalisées et celles-ci se sont intéressées au développement de pathologies cancéreuses mais aussi non cancéreuses en regard des données récentes en épidémiologie.

Le glyphosate a fait l'objet ces dernières années d'une focalisation très importante et d'un débat au sujet de sa cancérogénicité. À l'origine se trouvent les conclusions divergentes entre le Circ et d'autres agences, nationales ou internationales, chargées du classement et de la réglementation des substances chimiques. Ces divergences de conclusions s'expliquent en grande partie par les différentes approches et critères employés.

S'agissant des essais de cancérogénicité chez l'animal de laboratoire tout comme des études de mutagénicité, le niveau de preuve est relativement limité. Cependant, de nombreuses études mettent en évidence des dommages génotoxiques (cassures de l'ADN ou modifications de sa structure). Ces dommages, s'ils ne sont pas réparés sans erreur par les cellules, peuvent conduire à l'apparition de mutations et déclencher ainsi un processus de cancérogenèse. De tels effets sont cohérents avec l'induction directe ou indirecte d'un stress oxydant par le glyphosate, observée chez différentes espèces et systèmes cellulaires, parfois à des doses d'exposition compatibles avec celles auxquelles les populations peuvent être confrontées.

Au-delà de la capacité du glyphosate à induire la production d'espèces réactives de l'oxygène, d'autres caractéristiques toxicologiques ont été décrites. Le glyphosate est utilisé pour bloquer la synthèse des acides aminés chez les plantes. Son mode d'action principal repose sur le blocage d'une enzyme essentielle exprimée par les plantes mais aussi par les champignons et certaines bactéries. Contrairement à ces organismes, les animaux et l'être humain ne possèdent pas le gène codant cette enzyme. Or, des études expérimentales suggèrent des effets délétères en lien avec un mécanisme de perturbation endocrinienne, une toxicité mitochondriale (mitotoxicité associée à des perturbations comportementales dans des modèles comme le poisson zèbre), une activation des voies œstrogéniques sans liaison aux récepteurs de l'œstradiol ou une altération de la stéroïdogenèse. De nouvelles études publiées depuis 2013, qui demanderont à être confirmées, indiquent également une dérégulation de la concentration de neurotransmetteurs (compatibles avec des altérations comportementales), mais aussi du microbiote du système digestif chez plusieurs espèces animales (dont l'humain), cible logique du glyphosate puisque certaines bactéries expriment l'enzyme ciblée chez les plantes. De tels mécanismes mériteraient d'être approfondis et davantage pris en considération dans les procédures d'évaluation réglementaires.

La question environnementale et ses retentissements indirects sur la santé humaine *via* l'hypothèse d'un effet de l'utilisation du glyphosate sur les écosystèmes et leur régulation dépassent le cadre de cette expertise. Elle mériterait d'être abordée dans le cadre de l'approche intégrée et systémique « *One Health* » et devrait être intégrée par les décideurs au même titre que les aspects sociaux et économiques pour la prise de décision.

Tableau 19.IV : Comparaison des analyses entre le Circ et le BfR/Efsa/Echa sur les tests de cancérogenèse chez les rongeurs[1]

Références Souche, sexe, durée	Substance et doses[2]	Résultats[3]	Analyse des données par le Circ	Analyse des données par le BfR/Efsa/Echa
Études chez la souris				
Knezevich et Hogan, 1983 (EPA, 1985a ; EPA, 1985b ; EPA, 1986 ; EPA, 1991d) CD-1 ; (M/F) ; 24 mois ; TOX9552381 (Monsanto)	Glyphosate (99,7 %) à 0, 1 000, 5 000, 30 000 ppm (égal à 0, 157/190, 814/955, 4 841/5 874 mg/kg pc/j) ; exposition voie orale (croquettes)	Mâles : adénome tubulaire rénal (0/49, 0/49, 1/50, 3/50 animaux) ; pas de données sur le rein pour les femelles Réexamen des coupes (EPA, 1986) : adénome tubulaire rénal (1/49, 0/49, 0/50, 1/50 animaux) [NS] ; carcinome rénal (0/49, 0/49, 1/50, 2/50 animaux) [p = 0,037] ; adénome tubulaire ou carcinome rénal combiné (1/49, 0/49, 1/50, 3/50 animaux) [p = 0,034]	Le rapport des pathologistes en 1986 confirme l'absence d'augmentation d'incidence en comparant les groupes traités au contrôle ; cependant le test de tendance donne une valeur de p = 0,016.	Analyse par paires résultat négatif. Contrôles historiques pour adénome ou carcinome rénal valeur jusqu'à 6 %. Toxicité ne peut être exclue à forte dose. Tumeur rénale résultat considéré comme négatif
Atkinson et coll., 1993a (JMPR, 2006) CD-1 ; (M/F) ; 24 mois ; TOX9552382 (Cheminova)	Glyphosate (98,6 %) à 0, 100, 300, 1 000 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Mâles : hémangiosarcome (0/50, 0/50, 0/50, 4/50) ; histiosarcome dans tissu hématopoïétique (0/50, 2/50, 0/50, 2/50) ; lymphome (4/50, 2/50, 1/50, 6/50) Femelles : hémangiosarcome (0/50, 2/50, 0/50, 1/50) ; histiosarcome dans tissu hématopoïétique (0/50, 3/50, 3/50, 1/50) ; lymphome (14/50, 12/50, 9/50, 13/50)	Test de tendance p < 0,001 pour hémangiosarcome chez les mâles (non significatif pour les femelles et les autres tumeurs chez les deux sexes)	Analyse par paires résultat négatif. L'incidence basale pour l'hémangiosarcome est de 12 % si tous les organes sont considérés. L'incidence observée relève d'un effet spontané non relié au traitement.
George et coll., 2010 Swiss ; (M) ; 32 semaines ; ASB2012-11829, étude initiation-promotion	GBH (Roundup Original : 41 % glyphosate, 15 % POEA) ; 25 mg/kg pc ; exposition cutanée	Tumeurs cutanées (papillomes) : contrôles : 0/20 ; GBH (3 fois par semaine) : 0/20 ; GBH (1 ou 9 doses) puis TPA : 0/20 ; DMBA puis GBH (3 fois par semaine) : 8/20	Durée de traitement courte, pas de contrôle des solvants, pas d'évaluation histopathologique, âge de début d'expérimentation non renseigné. Conclusion : étude non pertinente	Étude inadéquate pour tester un effet carcinogène du glyphosate

Tableau 19.IV : (suite)

Références Souche, sexe, durée	Substance et doses[2]	Résultats[3]	Analyse des données par le Circ	Analyse des données par le BfR/Efsa/Echa
Wood et coll., 2009b CD-1 ; (M/F) ; 18 mois ; ASB2012-11492 (Nufarm)	Glyphosate (95,7 %) : 0, 500, 1 500, 5 000 ppm (égal à 71/98 ; 234/299 ; 810/1 081 mg/kg pc/j) ; exposition voie orale	Pas d'augmentation d'incidence de tumeur, cependant mâles : lymphome : (0/51, 1/51, 2/51, 5/51) ; femelles : lymphome : (11/51, 8/51, 10/51, 11/51)	Analyse réalisée pour le Circ par un expert externe a conclu à une association significative pour les mâles (p = 0,004) ; étude non considérée	Résultat négatif
Kumar, 2001 Swiss albino ; (M/F) ; 18 mois ; ASB2012-11491 (ADAMA)	Glyphosate (95,14 %) : 0, 100, 1 000, 10 000 ppm (égal à 15 ; 151 ; 1 460 mg/kg pc/j pour les mâles et femelles)	Augmentation d'incidence de lymphome à dose élevée chez les mâles, modification histologique de l'estomac ; mâles : lymphome (10/50, 15/50, 16/50, 19/50) ; femelles : lymphome (18/50, 20/50, 19/50, 25/50)	Analyse réalisée pour le Circ par un expert externe a conclu à une association significative pour les mâles (p = 0,05) ; étude non considérée	Tenant compte des contrôles historiques (18 à 27 % de lymphomes chez les mâles, voire jusqu'à 50 % mais l'étude rapporte cette valeur à une infection virale de la souche « CFW Swiss »), quelques indications de cancérogenèse mais non suffisante pour être prise en compte pour une classification
Sugimoto, 1997 CD-1 ; (M/F) ; 18 mois ; ASB2012-11493 (Arysta)	Glyphosate (97,56 % et 94,61 %) : 0, 1 600, 8 000, 40 000 ppm (égal à 165/153 ; 838/787 ; 4 348/4 116 mg/kg pc/j)	Pas de réponse positive en cancérogénicité ; mâles : lymphome (2/50, 2/50, 0/50, 6/50) ; femelles : lymphomes (6/50, 4/50, 8/50, 7/50)	Étude non considérée	Résultat négatif
Études chez le rat				
Séralini et coll., 2014 Sprague-Dawley ; (M/F) ; 24 mois	GBH : 0, 1,1 x 10^{-8} %, 0,09 %, 0,5 % (égal à 0, 50 ng/l, 400 mg/l, 2,25 g/l glyphosate) ; exposition par l'eau de boisson	Mâles : pas d'augmentation d'incidence de tumeurs ; femelles : tumeurs mammaires (5/10, 9/10, 10/10, 9/10), anomalies hypophysaires (6/10, 8/10, 7/10, 7/10)	Pas d'information sur la composition de la formulation, histopathologie peu décrite et non discutée, nombre d'animaux trop faible. Conclusion : étude non pertinente	Taille des groupes trop faible (10 M et 10 F), non pris en compte dans l'évaluation CLP
Chruscielska et coll., 2000 Wistar ; (M/F) ; 24 mois	Glyphosate (sel d'ammonium) : 0, 300, 900, 2 700 mg/l ; exposition par l'eau de boisson	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs (55 M et 55 F)	Peu d'information sur les régimes, l'histopathologie et l'incidence des tumeurs	Sel testé et non l'acide, protocole discutable, non pris en compte dans l'évaluation CLP

Tableau 19.IV : (suite)

Références Souche, sexe, durée	Substance et doses[2]	Résultats[3]	Analyse des données par le Circ	Analyse des données par le BfR/Efsa/Echa
Milburn, 1996 (JMPR, 2006) Wistar ; (M/F) ; 12 mois	Glyphosate (95,6 %) : 0, 2 000, 8 000, 20 000 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs (24 M et 24 F)	Durée limitée d'exposition	Pas mentionnée
Atkinson et coll., 1993b (JMPR, 2006) Sprague-Dawley ; (M/F) ; 24 mois ; TOX9750499 (Cheminova)	Glyphosate (98,7 % et 98,9 %) : 0, 10, 100, 300, 1 000 mg/kg pc/j ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs	Résultat négatif	Résultat négatif
Brammer, 2001 (JMPR, 2006) Wistar ; (M/F) ; 24 mois ; ASB2012-11488 (Syngenta)	Glyphosate (97,6 %) : 0, 2 000, 6 000, 20 000 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs	Résultat négatif	Résultat négatif
Stout et Ruecker, 1990 (EPA, 1991d ; EPA, 1991b ; EPA, 1991c ; EPA, 1991a) Sprague-Dawley ; (M/F) ; 24 mois ; TOX9300244 (Monsanto)	Glyphosate (96,5 %) : 0, 2 000, 8 000, 20 000 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Mâles : adénome pancréatique (1/58, 8/57, 5/60, 7/59), carcinome pancréatique (1/58, 0/57, 0/60, 0/59), adénome et carcinome combinés (2/58, 8/57, 5/60, 7/59), adénome hépatique (2/60, 2/60, 3/60, 7/60), carcinome hépatique (3/60, 2/60, 1/60, 2/60) Femelles : adénome pancréatique (5/60, 1/60, 4/60, 0/59), carcinome pancréatique (0/60, 0/60, 0/60, 0/59), adénome et carcinome combinés (5/60, 1/60, 4/60, 0/59), adénome thyroïdien (2/60, 2/60, 6/60, 7/60) et carcinome thyroïdien (0/60, 0/60, 1/60, 0/60)	Contrôles historiques adénome pancréatique 1,8 à 8,5 % Analyses statistiques additionnelles (EPA, 1991a) : mâles : adénome pancréatique $p < 0,05$, test de tendance $p = 0,016$, pas de progression vers carcinome ; adénome hépatique test de tendance $p = 0,016$, pas de progression vers carcinome ; femelles : adénome thyroïdien test de tendance $p = 0,031$, pas d'évolution vers carcinome	Résultat positif pour tumeur du pancréas considéré comme fortuit à faible dose. Adénome hépatique chez le rat et de la thyroïde chez les femelles mais sans évolution vers le carcinome

Tableau 19.IV : (suite)

Références Souche, sexe, durée	Substance et doses[2]	Résultats[3]	Analyse des données par le Circ	Analyse des données par le BfR/Efsa/Echa
Lankas, 1981 (EPA, 1991d ; EPA, 1991b ; EPA, 1991c ; EPA, 1991a) Sprague-Dawley ; (M/F) ; 26 mois ; TOX2000-595 et TOX2000-1997 (Monsanto)	Glyphosate (98,7 %) : 0, 30, 100, 300 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Mâles : adénome pancréatique (0/50, 5/49, 2/50, 2/50), carcinome pancréatique (0/50, 0/49, 0/50, 1/50), adénome et carcinome combinés 0/50, 5/49, 2/50, 3/50) Femelles : adénome pancréatique (2/50, 1/50, 1/50, 0/50), carcinome pancréatique (0/50, 1/50, 1/50, 1/50), adénome et carcinome combinés (2/50, 2/50, 2/50, 1/50)	Absence de tendance positive d'incidence de tumeur pancréatique et absence d'évolution vers un carcinome mais augmentation dans un des groupes de mâles (30 ppm, test Fisher exact $p < 0,05$)	Pas d'augmentation incidence de tumeur
Wood et coll., 2009a Wistar ; (M/F) ; 24 mois ; ASB2012-11490 (Nufarm)	Glyphosate (95,7 %) : 0, 1 500, 5 000, 15 000 ppm avec augmentation jusqu'à 24 000 ppm (égal à 86/105, 285/349, et 1 077/1 382 mg/kg pc) ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation incidence de tumeur	Étude non considérée	Résultat négatif
Enomoto, 1997 Sprague-Dawley ; (M/F) ; 24 mois ; ASB2012-11484 (Arysta)	Glyphosate (94,61 % et 97,56 %) : 0, 3 000, 10 000, 30 000 ppm (égal à 104/115, 354/393, 1 127/1 247 mg/kg) ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation incidence de tumeur	Étude non considérée	Résultat négatif
Suresh, 1996 Wistar ; (M/F) ; 24 mois ;				
TOX9651587 (ADAMA)	Glyphosate (96,0 % et 96,8 %) : 0, 100, 1 000, 10 000 ppm (égal à 6,3/8,6, 59,4/88,5, 595,2/886 mg/kg) ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs	Étude non considérée	Résultat négatif

[1] : les données dans ce tableau récapitulatif proviennent d'une analyse des approches réglementaires (Clausing et coll., 2018) et des rapports sur le glyphosate publiés par des agences nationales et européennes (BfR, 2015a ; BfR, 2015b ; Efsa, 2015b ; EPA, 2017 ; IARC, 2017). Les références des études non publiées des industriels sont fournies par souci de clarté.
[2] : les doses séparées par une barre oblique sont les données pour les mâles et les femelles.
[3] : les chiffres séparés par une barre oblique correspondent, pour chaque groupe d'exposition, au nombre d'animaux démontrant la pathologie par rapport au total.
Abréviations : CLP : classification, l'étiquetage et l'emballage des substances et mélanges (*Classification, Labelling and Packaging*) ; DMBA : 7,12-diméthylbenz[a]anthracène ; GBH : *Glyphosate-based herbicide* ; JMPR : *Joint Meeting on Pesticide Residues* de l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture des Nations Unies et de l'Organisation mondiale de la santé ; POEA : polyoxyéthylène amine ; TPA : 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate.

Références

• Étude industrielle pour les dossiers d'évaluations réglementaires

•• Étude financée par un industriel des phytosanitaires

••• Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires

•••• Étude où un lien d'intérêt a été identifié

Abramov AY, Smulders-Srinivasan TK, Kirby DM, *et al.* Mechanism of neurodegeneration of neurons with mitochondrial DNA mutations. *Brain* 2010 ; 133 : 797-807.

Ackermann W, Coenen M, Schrödl W, *et al.* The influence of glyphosate on the microbiota and production of botulinum neurotoxin during ruminal fermentation. *Curr Microbiol* 2015 ; 70 : 374-82.

Acquavella JF, Alexander BH, Mandel JS, *et al.* Glyphosate biomonitoring for farmers and their families: results from the Farm Family Exposure Study. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 321-6. •••

ACTA. *Index ACTA phytosanitaire 2019 :* Acta Éditions, 2019 : 1040 p.

Afssa. *Saisine n° 2004-SA-0069 : Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés au dépassement de la limite de qualité des pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine*. Maisons-Alfort : Afssa, 2007 : 31 p., consulté le 13/01/20 : https://www.anses.fr/fr/system/files/EAUX2004sa0069.pdf

Ait Bali Y, Ba-M'hamed S, Elhidar N, *et al.* Glyphosate based- herbicide exposure affects gut microbiota, anxiety and depression-like behaviors in mice. *Neurotoxicol Teratol* 2018 ; 67 : 44-9.

Ait Bali Y, Ba-Mhamed S, Bennis M. Behavioral and immunohistochemical study of the effects of subchronic and chronic exposure to glyphosate in mice. *Front Behav Neurosci* 2017 ; 11 : 146.

Alleva R, Manzella N, Gaetani S, *et al.* Organic honey supplementation reverses pesticide-induced genotoxicity by modulating DNA damage response. *Mol Nutr Food Res* 2016 ; 60 : 2243-55.

Altamirano GA, Delconte MB, Gomez AL, *et al.* Postnatal exposure to a glyphosate-based herbicide modifies mammary gland growth and development in Wistar male rats. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 111-8.

Alvarez-Moya C, Silva MR, Ramirez CV, *et al.* Comparison of the in vivo and in vitro genotoxicity of glyphosate isopropylamine salt in three different organisms. *Genet Mol Biol* 2014 ; 37 : 105-10.

Alvarez-Moya C, Silva MR, Arambula AR, *et al.* Evaluation of genetic damage induced by glyphosate isopropylamine salt using Tradescantia bioassays. *Genet Mol Biol* 2011 ; 34 : 127-30.

Andreotti G, Koutros S, Hofmann JN, *et al.* Glyphosate use and cancer incidence in the Agricultural Health Study. *J Natl Cancer Inst* 2018 ; 110 : 509-16.

Anifandis G, Katsanaki K, Lagodonti G, *et al*. The effect of glyphosate on human sperm motility and sperm DNA fragmentation. *Int J Environ Res Public Health* 2018a ; 15 : 1117.

Anifandis G, Amiridis G, Dafopoulos K, *et al*. The in vitro impact of the herbicide Roundup on human sperm motility and sperm mitochondria. *Toxics* 2018b ; 6 : 2.

Anses. E-phy, le catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages, des matières fertilisantes et des supports de culture autorisés en France, 2019a, consulté le 11/11/19 : https://ephy.anses.fr/

Anses. *Glyphosate. Phytopharmacovigilance. Synthèse des données de surveillance. Appui scientifique et technique. 2017-04*, 2019b, consulté le 13/01/20 : https://www.anses.fr/fr/system/files/Fiche_PPV_Glyphosate.pdf

Anses. *Guide de validation des méthodes d'analyses :* Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, 2015 : 67 p., consulté le 13/01/20 : https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES_GuideValidation.pdf

Atkinson C, Martin T, Hudson P, *et al*. *Glyphosate: 104 week combined chronic feeding/oncogenicity study in rats with 52 week interim kill (results after 104 weeks.). Inveresk Research International, Tranent, Scotland. Submitted to WHO by Cheminova A/S, Lemvig, Denmark. report No. 7867, IRI project No. 438623, dated 7 April 1993, [unpublished]*, 1993a. •

Atkinson C, Strutt A, Henderson W, *et al*. *Glyphosate: 104 week dietary carcinogenicity study in mice. Inveresk Research International, Tranent, Scotland. Submitted to WHO by Cheminova A/S, Lemvig, Denmark.MRID 49631702. IRI project No. 438618, Report No. 7793 dated 12 April 1991, [unpublished]*, 1993b. •

ATSDR. *Toxicological profile for glyphosate: draft for public comment [Internet]:* Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service., 2019 : 257 p., consulté le 13/01/20 : https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp214.pdf

Bailey DC, Todt CE, Burchfield SL, *et al*. Chronic exposure to a glyphosate-containing pesticide leads to mitochondrial dysfunction and increased reactive oxygen species production in Caenorhabditis elegans. *Environ Toxicol Pharmacol* 2018 ; 57 : 46-52.

Barr DB, Thomas K, Curwin B, *et al*. Biomonitoring of exposure in farmworker studies. *Environ Health Perspect* 2006 ; 114 : 936-42. •••

Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, *et al*. Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 192-200.

Beckert M, Dessaux Y, Charlier C, *et al*. *Les variétés végétales tolérantes aux herbicides : Effets agronomiques, environnementaux, socio-économiques. Expertise scientifique collective*. France : CNRS-INRA, 2011, consulté le 13/01/20 : https://www6.paris.inrae.fr/depe/Media/Fichier/Expertises/VTH/VTH-Synthese

Ben Maamar M, Beck D, Nilsson EE, *et al*. Epigenome-wide association study for glyphosate induced transgenerational sperm DNA methylation and histone retention epigenetic biomarkers for disease. *Epigenetics* 2020 : 1-18.

Benachour N, Sipahutar H, Moslemi S, *et al*. Time- and dose-dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells. *Arch Environ Contam Toxicol* 2007 ; 53 : 126-33.

Benbrook CM. Why regulators lost track and control of pesticide risks: lessons from the case of glyphosate-based herbicides and genetically engineered-crop technology. *Curr Environ Health Rep* 2018 ; 5 : 387-95.

Benbrook CM. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ Sci Eur* 2016 ; 28 : 3.

Benito-León J, Louis ED, Villarejo-Galende A, *et al*. Under-reporting of Parkinson's disease on death certificates: a population-based study (NEDICES). *J Neurol Sci* 2014 ; 347 : 188-92.

Bernal J, Martin MT, Soto ME, *et al*. Development and application of a liquid chromatography-mass spectrometry method to evaluate the glyphosate and aminomethylphosphonic acid dissipation in maize plants after foliar treatment. *J Agric Food Chem* 2012 ; 60 : 4017-25.

BfR. *Federal Institute for Risk Assessment (BFR) Renewal Assessment Report Glyphosate Addendum 1 to RAR*, 2015a : 167 p., consulté le 13/01/20 : https://gmwatch.org/files/Renewal_Assessment_Report_Glyphosate_Addendum1_RAR.pdf

BfR. *Renewal Assessment Report. Glyphosate. Volume 1. Report and Proposed Decision. Revised 29 January 2015 and 31 March 2015*, 2015b : 4322 p., consulté le 13/01/20 : https://echa.europa.eu/documents/10162/13626/renewal_assessment_report_addenda_en.pdf

Bohn T, Cuhra M, Traavik T, *et al*. Compositional differences in soybeans on the market: glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. *Food Chem* 2014 ; 153 : 207-15.

Bolognesi C, Bonatti S, Degan P, *et al*. Genotoxic activity of glyphosate and its technical formulation Roundup. *J Agric Food Chem* 1997 ; 45 : 1957-62.

Botero-Coy AM, Ibanez M, Sancho JV, *et al*. Improvements in the analytical methodology for the residue determination of the herbicide glyphosate in soils by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2013 ; 1292 : 132-41.

Brammer A. *Glyphosate acid: two year dietary toxicity and oncogenicity study in rats. Zeneca Agrochemicals, Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, England. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG, Basel, Switzerland report No. CTL/PR1111, study No. PR1111, dated 15 March 2001, [Unpublished]*, 2001. •

Bridges RS. Long-term alterations in neural and endocrine processes induced by motherhood in mammals. *Horm Behav* 2016 ; 77 : 193-203.

Bridi D, Altenhofen S, Gonzalez JB, *et al*. Glyphosate and Roundup((R)) alter morphology and behavior in zebrafish. *Toxicology* 2017 ; 392 : 32-9.

Byer JD, Struger J, Sverko E, *et al*. Spatial and seasonal variations in atrazine and metolachlor surface water concentrations in Ontario (Canada) using ELISA. *Chemosphere* 2011 ; 82 : 1155-60.

Byer JD, Struger J, Klawunn P, *et al*. Low cost monitoring of glyphosate in surface waters using the ELISA method: an evaluation. *Environ Sci Technol* 2008 ; 42 : 6052-7.

Caballero M, Amiri S, Denney JT, *et al*. Estimated residential exposure to agricultural chemicals and premature mortality by Parkinson's disease in Washington State. *Int J Environ Res Public Health* 2018 ; 15 : 2885.

Cai W, Ji Y, Song X, *et al*. Effects of glyphosate exposure on sperm concentration in rodents: A systematic review and meta-analysis. *Environ Toxicol Pharmacol* 2017 ; 55 : 148-55.

Camacho A, Mejía D. The health consequences of aerial spraying illicit crops: The case of Colombia. *J Health Econ* 2017 ; 54 : 147-60.

Cattani D, Cesconetto PA, Tavares MK, *et al*. Developmental exposure to glyphosate-based herbicide and depressive-like behavior in adult offspring: Implication of glutamate excitotoxicity and oxidative stress. *Toxicology* 2017 ; 387 : 67-80.

Chang ET, Delzell E. Systematic review and meta-analysis of glyphosate exposure and risk of lymphohematopoietic cancers. *J Environ Sci Health B* 2016 ; 51 : 402-34. ••

Chereau S, Rogowsky P, Laporte B, *et al*. Rat feeding trials: A comprehensive assessment of contaminants in both genetically modified maize and resulting pellets. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 121 : 573-82.

Chevrier C, Limon G, Monfort C, *et al*. Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environ Health Perspect* 2011 ; 119 : 1034-41.

Chevrier C, Petit C, Limon, G., Monfort, C., *et al*. Biomarqueurs urinaires d'exposition aux pesticides des femmes enceintes de la cohorte Pélagie réalisée en Bretagne (2002-2006). *Bull Epidemiol Hebd (Paris)* 2009 : 23.

Chruscielska K, Brzezinski J, Kita K, *et al*. Glyphosate – evaluation of chronic activity and possible far-reaching effects: Part 1. Studies on chronic toxicity. *Pestycydy (Warsaw)* 2000 : 11-20.

Clausing P, Robinson C, Burtscher-Schaden H. Pesticides and public health: an analysis of the regulatory approach to assessing the carcinogenicity of glyphosate in the European Union. *J Epidemiol Community Health* 2018 ; 72 : 668.

Clegg BS, Stephenson GR, Hall JC. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of glyphosate. *J Agric Food Chem* 1999 ; 47 : 5031-7.

Commissariat général au développement durable. *Les pesticides dans les cours d'eau français en 2013 :* Commissariat général au développement durable, 2015 : 12 p., consulté le 13/01/20 :
https://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/sites/default/files/2018-10/chiffres-stats697-pesticides-dans-cours-deau2013-novembre2015.pdf

Connolly A, Coggins MA, Galea KS, *et al*. Evaluating glyphosate exposure routes and their contribution to total body burden: a study among amenity horticulturalists. *Ann Work Expo Health* 2019a ; 63 : 133-47.

Connolly A, Jones K, Basinas I, *et al.* Exploring the half-life of glyphosate in human urine samples. *Int J Hyg Environ Health* 2019b ; 222 : 205-10.

Connolly A, Basinas I, Jones K, *et al.* Characterising glyphosate exposures among amenity horticulturists using multiple spot urine samples. *Int J Hyg Environ Health* 2018 ; 221 : 1012-22.

Connolly A, Jones K, Galea KS, *et al.* Exposure assessment using human biomonitoring for glyphosate and fluroxypyr users in amenity horticulture. *Int J Hyg Environ Health* 2017 ; 220 : 1064-73.

Conrad A, Schroter-Kermani C, Hoppe HW, *et al.* Glyphosate in German adults - Time trend (2001 to 2015) of human exposure to a widely used herbicide. *Int J Hyg Environ Health* 2017 ; 220 : 8-16.

Conti CL, Barbosa WM, Simao JBP, *et al.* Pesticide exposure, tobacco use, poor self-perceived health and presence of chronic disease are determinants of depressive symptoms among coffee growers from Southeast Brazil. *Psychiatry Res* 2018 ; 260 : 187-92.

Curwin BD, Hein MJ, Sanderson WT, *et al.* Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in Iowa. *Ann Occup Hyg* 2006 ; 51 : 53-65.

Dallegrave E, Mantese FD, Oliveira RT, *et al.* Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Arch Toxicol* 2007 ; 81 : 665-73.

Dallegrave E, Mantese FD, Coelho RS, *et al.* The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup® in Wistar rats. *Toxicol Lett* 2003 ; 142 : 45-52.

De Araujo JSA, Delgado IF, Paumgartten FJR. Glyphosate and adverse pregnancy outcomes, a systematic review of observational studies. *BMC Public Health* 2016 ; 16 : 472.

De Liz Oliveira Cavalli VL, Cattani D, Heinz Rieg CE, *et al.* Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells. *Free Radic Biol Med* 2013 ; 65 : 335-46.

De Marco A, Simone C de, Raglione M, *et al.* Importance of the type of soil for the induction of micronuclei and the growth of primary roots of Vicia faba treated with the herbicides atrazine, glyphosate and maleic hydrazide. *Mutation Research/ Genetic Toxicology* 1992 ; 279 : 9-13.

de Roos AJ, Blair A, Rusiecki JA, *et al.* Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 49-54.

Dechartres J, Pawluski JL, Gueguen MM, *et al.* Glyphosate and glyphosate-based herbicide exposure during the peripartum period affects maternal brain plasticity, maternal behaviour and microbiome. *J Neuroendocrinol* 2019 ; 31 : e12731.

Defarge N, Takacs E, Lozano VL, *et al.* Co-Formulants in glyphosate-based herbicides disrupt aromatase activity in human cells below toxic levels. *Int J Environ Res Public Health* 2016 ; 13 : 264.

Dereumeaux C, Guldner L, Saoudi A, *et al. Imprégnation des femmes enceintes par les*

polluants de l'environnement en France en 2011 : Volet périnatal du programme national de biosurveillance mis en œuvre au sein de la cohorte Elfe. Tome 1 : polluants organiques. Saint-Maurice, France : Institut de veille sanitaire, 2016 : 261 p.

Douwes J, ŧ Mannetje A, McLean D, *et al*. Carcinogenicity of glyphosate: why is New Zealand's EPA lost in the weeds? *N Z Med J* 2018 ; 131 : 82-9.

Echa. *CLH report for glyphosate. Proposal for harmonised classification and labelling. Substance name: N-(phosphonomethyl)glycine ; Glyphosate(ISO)*, 2016 : 169 p

Efsa. Review of the existing maximum residue levels for glyphosate according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005 – revised version to take into account omitted data. *EFSA J* 2019a ; 17 : 5862.

Efsa. Scientific report on the 2017 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J* 2019b ; 17 : 5743.

Efsa. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the potential endocrine disrupting properties of glyphosate. *EFSA J* 2017 ; 15 : 4979.

Efsa. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate. *EFSA J* 2015a ; 13 : 4302.

Efsa. *Peer Review Report on glyphosate*, 2015b : 1929 p.

Elbaz A, Clavel J, Rathouz PJ, *et al*. Professional exposure to pesticides and Parkinson disease. *Ann Neurol* 2009 ; 66 : 494-504.

El-Zaemey S, Schinasi LH, Ferro G, *et al*. Animal farming and the risk of lympho-haematopoietic cancers: a meta-analysis of three cohort studies within the AGRICOH consortium. *Occup Environ Med* 2019 ; 76 : 827-37.

Enomoto A. *HR-001: 24-month oral chronic toxicity and oncogenicity study in rats, The Institute of Environmental Toxicology, Arysta Life Sciences, Kodaira-shi, Tokyo, Japan [Unpublished]*, 1997. •

EPA. *Revised glyphosate issue paper: evaluation of carcinogenic potential:* Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 2017 : 216 p., consulté le 13/01/20 :
https://www.regulations.gov/contentStreamer?documentId=EPA-HQ-OPP-2009-0361-0073&contentType=pdf

EPA. *EDSP: Weight of evidence analysis of potential interaction with the estrogen, androgen or thyroid pathways*: *Chemical: Glyphosate:* Office of Pesticide Programs, Office of Science Coordination and Policy, U.S. Environmental Protection Agency, 2015 : 70 p., consulté le 13/01/20 :
https://www.regulations.gov/contentStreamer?documentId=EPA-HQ-OPP-2009-0361-0047&disposition=attachment&contentType=pdf

EPA. *EPA Reg.#: 524-308 ; 2-year chronic feeding/oncogenicity study in rats with technical glyphosate. Document No. 008897*. Washington (DC): Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1991a, consulté le 13/01/20 :
https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-268.pdf

EPA. *Glyphosate ; 2-year combined chronic toxicity/carcinogenicity study in Sprague-Dawley rats - List A pesticide for reregistration. Document No. 008390*. Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1991b, consulté le 13/01/20 : https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-263.pdf

EPA. *Peer review on glyphosate. Document No. 008527*. Washington (DC) : US Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances, 1991c.

EPA. *Second peer review of glyphosate*. Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1991d, consulté le 13/01/20 : https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-265.pdf

EPA. *EPA Reg.# : 524-308 ; Glyphosate ; Roundup ; additional histopathological evaluations of kidneys in the chronic feeding study of glyphosate in mice. Document No. 005590*. Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1986 [consulté le 13/01/20 : https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-211.pdf

EPA. *EPA Reg.# : 524-308 ; Glyphosate ; Mouse oncogenicity study. Document No. 004370*. Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1985a, consulté le 13/01/20 : https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-183.pdf

EPA. *EPA Reg.# : 524-308 ; Roundup ; glyphosate ; pathology report on additional kidney sections. Document No. 004855*. Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1985b, consulté le 13/01/20 : https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-207.pdf

EPA. *EPA Reg.# : 524-308 ; Glyphosate ; Submission of rat teratology, rabbit teratology, dominant lethal mutagenicity assay in mice*. Washington, DC : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1980, consulté le 13/01/20 : https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-090.pdf

Eriksson M, Hardell L, Carlberg M, *et al*. Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis. *Int J Cancer* 2008 ; 123 : 1657-63.

Faita MR, Oliveira EdM, Alves VV, *et al*. Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (Apis mellifera) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. *Chemosphere* 2018 ; 211 : 566-72.

Faniband MH, Norén E, Littorin M, *et al*. Human experimental exposure to glyphosate and biomonitoring of young Swedish adults. *Int J Hyg Environ Health* 2021 ; 231 : 113657.

Farmer D. Chapter 92 - Inhibitors of aromatic acid biosynthesis. In : Krieger R, ed. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Third Edition)*. New York, 2010 : 1967-72.

Forgacs AL, Ding Q, Jaremba RG, *et al.* BLTK1 murine Leydig cells: a novel steroidogenic model for evaluating the effects of reproductive and developmental toxicants. *Toxicol Sci* 2012 ; 127 : 391-402.

Forsythe SD., Devarasetty M, Shupe T, *et al.* Environmental toxin screening using human-derived 3D bioengineered liver and cardiac organoids. *Front Public Health* 2018 ; 6 : 103.

Fréry N, Guldner L, Saoudi A, *et al. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Tome 2 : Polychlorobiphényles (PCB-NDL) et pesticides*. Saint-Maurice, France : Institut de veille sanitaire, 2013 : 178 p [consulté le 13/01/20 : https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/182197/2306215].

Frescura VD, Kuhn AW, Laughinghouse HD 4th, *et al.* Post-treatment with plant extracts used in Brazilian folk medicine caused a partial reversal of the antiproliferative effect of glyphosate in the Allium cepa test. *Biocell* 2013 ; 37 : 23-8.

Galland L. The gut microbiome and the brain. *J Med Food* 2014 ; 17 : 1261-72.

Gallegos CE, Baier CJ, Bartos M, *et al.* Perinatal glyphosate-based herbicide exposure in rats alters brain antioxidant status, glutamate and acetylcholine metabolism and affects recognition memory. *Neurotox Res* 2018 ; 34 : 363-74.

Garry VF, Harkins ME, Erickson LL, *et al.* Birth defects, season of conception, and sex of children born to pesticide applicators living in the Red River Valley of Minnesota, USA. *Environ Health Perspect* 2002 ; 110 Suppl 3 : 441-9.

George J, Prasad S, Mahmood Z, *et al.* Studies on glyphosate-induced carcinogenicity in mouse skin: a proteomic approach. *J Proteomics* 2010 ; 73 : 951-64.

Ghisi Nde C, de Oliveira EC, Prioli AJ. Does exposure to glyphosate lead to an increase in the micronuclei frequency? A systematic and meta-analytic review. *Chemosphere* 2016 ; 145 : 42-54.

Gillezeau C, van Gerwen M, Shaffer RM, *et al.* The evidence of human exposure to glyphosate: a review. *Environ Health* 2019 ; 18 : 2.

Goldacre MJ, Duncan M, Griffith M, *et al.* Trends in death certification for multiple sclerosis, motor neuron disease, Parkinson's disease and epilepsy in English populations 1979-2006. *J Neurol* 2010 ; 257 : 706-15.

Gomez AL, Altamirano GA, Leturia J, *et al.* Male mammary gland development and methylation status of estrogen receptor alpha in Wistar rats are modified by the developmental exposure to a glyphosate-based herbicide. *Mol Cell Endocrinol* 2019 ; 481 : 14-25.

Gress S, Lemoine S, Puddu PE, *et al.* Cardiotoxic electrophysiological effects of the herbicide Roundup® in rat and rabbit ventricular myocardium in vitro. *Cardiovasc Toxicol* 2015 ; 15 : 324-35.

Guerrero Schimpf M, Milesi MM, Luque EH, *et al.* Glyphosate-based herbicide enhances the uterine sensitivity to estradiol in rats. *J Endocrinol* 2018 ; 239 : 197.

Guerrero Schimpf M, Milesi MM, Ingaramo PI, *et al.* Neonatal exposure to a glyphosate based herbicide alters the development of the rat uterus. *Toxicology* 2017 ; 376 : 2-14.

Guilherme S, Santos MA, Gaivão I, *et al.* Are DNA-damaging effects induced by herbicide formulations (Roundup® and Garlon®) in fish transient and reversible upon cessation of exposure? *Aquat Toxicol* 2014 ; 155 : 213-21.

Guilherme S, Gaivao I, Santos MA, *et al.* DNA damage in fish (Anguilla anguilla) exposed to a glyphosate-based herbicide -- elucidation of organ-specificity and the role of oxidative stress. *Mutat Res* 2012 ; 743 : 1-9.

Guilherme S, Gaivao I, Santos MA, *et al.* European eel (Anguilla anguilla) genotoxic and pro-oxidant responses following short-term exposure to Roundup--a glyphosate-based herbicide. *Mutagenesis* 2010 ; 25 : 523-30.

Henneberger PK, Liang X, London SJ, *et al.* Exacerbation of symptoms in agricultural pesticide applicators with asthma. *Int Arch Occup Environ Health* 2014 ; 87 : 423-32.

Herbert LT, Vázquez DE, Arenas A, *et al.* Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. *J Exp Biol* 2014 ; 217 : 3457.

Hernandez-Plata I, Giordano M, Diaz-Munoz M, *et al.* The herbicide glyphosate causes behavioral changes and alterations in dopaminergic markers in male Sprague-Dawley rat. *Neurotoxicology* 2015 ; 46 : 79-91.

Heu C, Berquand A, Elie-Caille C, *et al.* Glyphosate-induced stiffening of HaCaT keratinocytes, a Peak Force Tapping study on living cells. *J Struct Biol* 2012 ; 178 : 1-7.

Hohenadel K, Harris SA, McLaughlin JR, *et al.* Exposure to multiple pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma in men from six Canadian provinces. *Int J Environ Res Public Health* 2011 ; 8 : 2320-30.

Hokanson R, Fudge R, Chowdhary R, *et al.* Alteration of estrogen-regulated gene expression in human cells induced by the agricultural and horticultural herbicide glyphosate. *Hum Exp Toxicol* 2007 ; 26 : 747-52.

Hong Y, Yang X, Huang Y, *et al.* Assessment of the oxidative and genotoxic effects of the glyphosate-based herbicide roundup on the freshwater shrimp, Macrobrachium nipponensis. *Chemosphere* 2018 ; 210 : 896-906.

Hong Y, Yang X, Yan G, *et al.* Effects of glyphosate on immune responses and haemocyte DNA damage of Chinese mitten crab, Eriocheir sinensis. *Fish Shellfish Immunol* 2017 ; 71 : 19-27.

Hoppin JA, Umbach DM, Long S, *et al.* Pesticides are associated with allergic and non-allergic wheeze among male farmers. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 535-43.

Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, *et al.* Pesticides and atopic and nonatopic asthma among farm women in the Agricultural Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2008 ; 177 : 11-8.

Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, *et al.* Pesticides and adult respiratory outcomes in the Agricultural Health Study. *Ann N Y Acad Sci* 2006 ; 1076 : 343-54.

Hori Y, Fujisawa M, Shimada K, *et al.* Determination of the herbicide glyphosate and its metabolite in biological specimens by gas chromatography-mass spectrometry. A case of poisoning by Roundup herbicide. *J Anal Toxicol* 2003 ; 27 : 162-6.

IARC. *Some organophosphate insecticides and herbicides*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Volume 112. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2017 : 464 p.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1001 p.

Jauhiainen A, Räsänen K, Sarantila R, *et al*. Occupational exposure of forest workers to glyphosate during brush saw spraying work. *Am Ind Hyg Assoc J* 1991 ; 52 : 61-4.

Jayasumana C, Paranagama P, Agampodi S, *et al*. Drinking well water and occupational exposure to herbicides is associated with chronic kidney disease, in Padavi-Sripura, Sri Lanka. *Environ Health* 2015a ; 14 : 6.

Jayasumana C, Gunatilake S, Siribaddana S. Simultaneous exposure to multiple heavy metals and glyphosate may contribute to Sri Lankan agricultural nephropathy. *Bmc Nephrology* 2015b ; 16 : 103.

Jensen PK, Wujcik CE, McGuire MK, *et al*. Validation of reliable and selective methods for direct determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in milk and urine using LC-MS/MS. *J Environ Sci Health B* 2016 ; 51 : 254-9. •••

Jiang X, Zhang N, Yin L, *et al*. A commercial Roundup? formulation induced male germ cell apoptosis by promoting the expression of XAF1 in adult mice. *Toxicol Lett* 2018 ; 296 : 163-72.

JMPR. *In : Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pesticide residues in food – 2004 : toxicological evaluations : Report No. WHO/ PCS/06.1*. Geneva : World Health Organisation, 2006, consulté le 13/01/20 :
http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241665203_eng.pdf

Johnson PD, Rimmer DA, Garrod AN, *et al*. Operator exposure when applying amenity herbicides by all-terrain vehicles and controlled droplet applicators. *Ann Occup Hyg* 2005 ; 49 : 25-32.

Kamel F, Tanner C, Umbach D, *et al*. Pesticide exposure and self-reported Parkinson's disease in the agricultural health study. *Am J Epidemiol* 2007 ; 165 : 364-74.

Kašuba V, Milić M, Rozgaj R, *et al*. Effects of low doses of glyphosate on DNA damage, cell proliferation and oxidative stress in the HepG2 cell line. *Environ Sci Pollut Res* 2017 ; 24 : 19267-81.

Knezevich A, Hogan GK. *A chronic feeding study of glyphosate in mice. Bio/Dynamic Inc. Report No. 77-2011. EPA Accession No. 251007 – 251009, and 251014. EPA Accession no. 251007-09,251014 dated July 21, 1983 [Unpublished]*, 1983. •

Kojima H, Sata F, Takeuchi S, *et al*. Comparative study of human and mouse pregnane X receptor agonistic activity in 200 pesticides using in vitro reporter gene assays. *Toxicology* 2011 ; 280 : 77-87.

Koller VJ, Furhacker M, Nersesyan A, *et al*. Cytotoxic and DNA-damaging properties of glyphosate and Roundup in human-derived buccal epithelial cells. *Arch Toxicol* 2012 ; 86 : 805-13.

Kosumi K, Mima K, Baba H, *et al.* Dysbiosis of the gut microbiota and colorectal cancer: the key target of molecular pathological epidemiology. *J Lab Precis Med* 2018 ; 3 : 76.

Koutros S, Silverman DT, Alavanja MC, *et al.* Occupational exposure to pesticides and bladder cancer risk. *Int J Epidemiol* 2016 ; 45 : 792-805.

Krüger M, Schledorn P, Schrödl W, *et al.* Detection of glyphosate residues in animals and humans. *J Environ Anal Toxicol* 2014 ; 04 : 210.

Kubsad D, Nilsson EE, King SE, *et al.* Assessment of glyphosate induced epigenetic transgenerational inheritance of pathologies and sperm epimutations: generational toxicology. *Sci Rep* 2019 ; 9 : 6372.

Kumar DPS. *Carcinogenicity study with glyphosate technical in Swiss albino mice, Toxicology Department Rallis Research Centre, Rallis India Limited. Study No. TOXI: 1559.CARCI-M. MRID 49987403. [Unpublished].*, 2001. •

Kurenbach B, Marjoshi D, Amabile-Cuevas CF, *et al.* Sublethal exposure to commercial formulations of the herbicides dicamba, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, and glyphosate cause changes in antibiotic susceptibility in Escherichia coli and Salmonella enterica serovar Typhimurium. *mBio* 2015 ; 6 : e00009-15.

Kwiatkowska M, Reszka E, Woźniak K, *et al.* DNA damage and methylation induced by glyphosate in human peripheral blood mononuclear cells (in vitro study). *Food Chem Toxicol* 2017 ; 105 : 93-8.

Lanaro R, Costa JL, Cazenave SO, *et al.* Determination of herbicides paraquat, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid in marijuana samples by capillary electrophoresis. *J Forensic Sci* 2015 ; 60 Suppl 1 : S241-7.

Lankas GP. *A lifetime study of glyphosate in rats. Bio Dynamics, Inc. Report No. 77-2062 EPA Accession. No. 247617 – 247621. December 23, 1981. MRID 00093879. [unpublished]*, 1981. •

Lavy TL, Cowell JE, Steinmetz JR, *et al.* Conifer seedling nursery worker exposure to glyphosate. *Arch Environ Contam Toxicol* 1992 ; 22 : 6-13.

Leon M, Schinasi LH, Lebailly P, *et al.* Pesticide use and risk of non-Hodgkin lymphoid malignancies in agricultural cohorts from France, Norway and the USA: a pooled analysis from the AGRICOH consortium. *Int J Epidemiol* 2019 ; 48 : 1519-35.

Lerro CC, Beane Freeman LE, DellaValle CT, *et al.* Occupational pesticide exposure and subclinical hypothyroidism among male pesticide applicators. *Occup Environ Med* 2018 ; 75 : 79-89.

Liao Y, Berthion JM, Colet I, *et al.* Validation and application of analytical method for glyphosate and glufosinate in foods by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2018 ; 1549 : 31-8.

Li AP, Long TJ. An evaluation of the genotoxic potential of glyphosate. *Fundam Appl Toxicol* 1988 ; 10 : 537-46. •••

Lin N, Garry V. In vitro studies of cellular and molecular developmental toxicity of adjuvants, herbicides, and fungicides commonly used in Red River Valley, Minnesota. *J Toxicol Environ Health A* 2000 ; 60 : 423-39.

Lioi MB, Scarfi MR, Santoro A, *et al.* Genotoxicity and oxidative stress induced by pesticide exposure in bovine lymphocyte cultures in vitro. *Mutat Res* 1998 ; 403 : 13-20.

Li Q, Lambrechts MJ, Zhang Q, *et al.* Glyphosate and AMPA inhibit cancer cell growth through inhibiting intracellular glycine synthesis. *Drug Des Devel Ther* 2013 ; 7 : 635-43.

Lopes FM, Sandrini JZ, Souza MM. Toxicity induced by glyphosate and glyphosate-based herbicides in the zebrafish hepatocyte cell line (ZF-L). *Ecotoxicol Environ Saf* 2018 ; 162 : 201-7.

Lorenz V, Milesi MM, Schimpf MG, *et al.* Epigenetic disruption of estrogen receptor alpha is induced by a glyphosate-based herbicide in the preimplantation uterus of rats. *Mol Cell Endocrinol* 2019 ; 480 : 133-41.

Lozano VL, Defarge N, Rocque L-M, *et al.* Sex-dependent impact of Roundup on the rat gut microbiome. *Toxicol Rep* 2018 ; 5 : 96-107.

Luaces JP, Rossi LF, Chirino MG, *et al.* Genotoxic effects of Roundup Full II® on lymphocytes of Chaetophractus villosus (Xenarthra, Mammalia): In vitro studies. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0182911.

Malatesta M, Perdoni F, Santin G, *et al.* Hepatoma tissue culture (HTC) cells as a model for investigating the effects of low concentrations of herbicide on cell structure and function. *Toxicol in Vitro* 2008 ; 22 : 1853-60.

Mamy L, Barriuso E, Gabrielle B. Glyphosate fate in soils when arriving in plant residues. *Chemosphere* 2016 ; 154 : 425-33.

Mamy L. *Comparaison des impacts environnementaux des herbicides à large spectre et des herbicides sélectifs : caractérisation de leur devenir dans le sol et modélisation*. Grignon, France. Doctorat, 2004.

Mañas F, Peralta L, Raviolo J, *et al.* Genotoxicity of AMPA, the environmental metabolite of glyphosate, assessed by the Comet assay and cytogenetic tests. *Ecotoxicol Environ Saf* 2009a ; 72 : 834-7.

Mañas F, Peralta L, Raviolo J, *et al.* Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environ Toxicol Pharmacol* 2009b ; 28 : 37-41.

Manservisi F, Lesseur C, Panzacchi S, *et al.* The Ramazzini Institute 13-week pilot study glyphosate-based herbicides administered at human-equivalent dose to Sprague Dawley rats: effects on development and endocrine system. *Environ Health* 2019 ; 18 : 15.

Mao Q, Manservisi F, Panzacchi S, *et al.* The Ramazzini Institute 13-week pilot study on glyphosate and Roundup administered at human-equivalent dose to Sprague Dawley rats: effects on the microbiome. *Environ Health* 2018 ; 17 : 50.

Martins-Junior HA, Lebre DT, Wang AY, *et al.* An alternative and fast method for determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) residues in soybean using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2009 ; 23 : 1029-34.

Mertens M, Höss S, Neumann G, *et al.* Glyphosate, a chelating agent†relevant for ecological risk assessment? *Environ Sci Pollut Res Int* 2018 ; 25 : 5298-317.

Mesnage R, Biserni M, Wozniak E, *et al.* Comparison of transcriptome responses to glyphosate, isoxaflutole, quizalofop-p-ethyl and mesotrione in the HepaRG cell line. *Toxicol Rep* 2018 ; 5 : 819-26.

Mesnage R, Phedonos A, Biserni M, *et al.* Evaluation of estrogen receptor alpha activation by glyphosate-based herbicide constituents. *Food Chem Toxicol* 2017 ; 108 : 30-42.

Mesnage R, Antoniou MN. Facts and fallacies in the debate on glyphosate toxicity. *Front Public Health* 2017 ; 5 : 316.

Mesnage R, Defarge N, Spiroux de Vendomois J, *et al.* Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. *Food Chem Toxicol* 2015 ; 84 : 133-53.

Mesnage R, Bernay B, Seralini GE. Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. *Toxicology* 2013 ; 313 : 122-8.

Mesnage R, Moesch C, Le Grand RG, *et al.* Glyphosate exposure in a farmer's family. *JEP* 2012 ; 03 : 1001-3.

Milburn GM. *Glyphosate acid: one year dietary toxicity study in rats. Unpublished report No. CTL/P/5143, study No. PR 1012, dated 2 October 1996, from Zeneca Agrochemicals, Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, England. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG, Basel, Switzerland.*, 1996. •

Milesi MM, Lorenz V, Pacini G, *et al.* Perinatal exposure to a glyphosate-based herbicide impairs female reproductive outcomes and induces second-generation adverse effects in Wistar rats. *Arch Toxicol* 2018 ; 92 : 2629-43.

Ministère de la Transition écologique et solidaire. L'environnement en France – Rapport sur l'état de l'environnement. Les pesticides dans les eaux souterraines – Fiches thématiques – Mise à jour le 11 octobre 2019.
https://ree.developpement-durable.gouv.fr/themes/risques-nuisances-pollutions/pollution-de-l-eau-douce/pesticides/article/les-pesticides-dans-les-eaux-souterraines

Motta EVS, Raymann K, Moran NA. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018 ; 115 : 10305.

Negga R, Rudd DA, Davis NS, *et al.* Exposure to Mn/Zn ethylene-bis-dithiocarbamate and glyphosate pesticides leads to neurodegeneration in Caenorhabditis elegans. *Neurotoxicology* 2011 ; 32 : 331-41.

Niemann L, Sieke C, Pfeil R, *et al.* A critical review of glyphosate findings in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumers. *J Verbr Lebensm* 2015 ; 10 : 3-12.

Niemeyer JC, de Santo FB, Guerra N, *et al.* Do recommended doses of glyphosate-based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment. *Chemosphere* 2018 ; 198 : 154-60.

Nwani CD, Nagpure NS, Kumar R, *et al*. DNA damage and oxidative stress modulatory effects of glyphosate-based herbicide in freshwater fish, Channa punctatus. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013 ; 36 : 539-47.

OECD. *Guidance document on revisions to OECD genetic toxicology test guidelines*, 2015 : 58 p.

Owagboriaye FO, Dedeke GA, Ademolu KO, *et al*. Reproductive toxicity of Roundup herbicide exposure in male albino rat. *Exp Toxicol Pathol* 2017 ; 69 : 461-8.

Paganelli A, Gnazzo V, Acosta H, *et al*. Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chem Res Toxicol* 2010 ; 23 : 1586-95.

Pahwa M, Beane Freeman LE, Spinelli JJ, *et al*. Glyphosate use and associations with non-Hodgkin lymphoma major histological sub-types: findings from the North American Pooled Project. *Scand J Work Environ Health* 2019 ; 45 : 600-9.

Panzacchi S, Mandrioli D, Manservisi F, *et al*. The Ramazzini Institute 13-week study on glyphosate-based herbicides at human-equivalent dose in Sprague Dawley rats: study design and first in-life endpoints evaluation. *Environ Health* 2018 ; 17 : 52.

Parajuli RK, Zhang Q, Liu S, *et al*. Aminomethylphosphonic acid and methoxyacetic acid induce apoptosis in prostate cancer cells. *Int J Mol Sci* 2015 ; 16 : 11750.

Parvez S, Gerona RR, Proctor C, *et al*. Glyphosate exposure in pregnancy and shortened gestational length: a prospective Indiana birth cohort study. *Environ Health* 2018 ; 17 : 23.

Patel O, Syamlal G, Henneberger PK, *et al*. Pesticide use, allergic rhinitis, and asthma among US farm operators. *J Agromedicine* 2018 ; 23 : 327-35.

Paulson GW, Gill WM. Are death certificates reliable to estimate the incidence of Parkinson's disease? *Mov Disord* 1995 ; 10 : 678.

Pereira AG, Jaramillo ML, Remor AP, *et al*. Low-concentration exposure to glyphosate-based herbicide modulates the complexes of the mitochondrial respiratory chain and induces mitochondrial hyperpolarization in the Danio rerio brain. *Chemosphere* 2018 ; 209 : 353-62.

Perry MJ, Mandrioli D, Belpoggi F, *et al*. Historical evidence of glyphosate exposure from a US agricultural cohort. *Environ Health* 2019 ; 18 : 42.

Pham TH, Derian L, Kervarrec C, *et al*. Perinatal exposure to glyphosate and a glyphosate-based herbicide affect spermatogenesis in mice. *Toxicol Sci* 2019 ; 169 : 260-71.

Pirus C, Bois C, Dufourg M-N, *et al*. Constructing a cohort: experience with the French Elfe Project. *Population (Engl Ed)* 2010 ; 65 : 543-74.

Portier CJ, Armstrong BK, Baguley BC, *et al*. Differences in the carcinogenic evaluation of glyphosate between the International Agency for Research on Cancer (IARC) and the European Food Safety Authority (EFSA). *J Epidemiol Community Health* 2016 ; 70 : 741-5.

Prasad S, Srivastava S, Singh M, *et al*. Clastogenic effects of glyphosate in bone marrow cells of swiss albino mice. *J Toxicol* 2009 ; 2009 : 308985.

Rank J, Jensen AG, Skov B, *et al*. Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, Salmonella mutagenicity test, and Allium anaphase-telophase test. *Mutat Res* 1993 ; 300 : 29-36.

Rappazzo KM, Warren JL, Davalos AD, *et al*. Maternal residential exposure to specific agricultural pesticide active ingredients and birth defects in a 2003-2005 North Carolina birth cohort. *Birth Defects Res* 2019 ; 111 : 312-23.

Ravier S, Désert M, Gille G, *et al*. Monitoring of glyphosate, glufosinate-ammonium, and (aminomethyl)phosphonic acid in ambient air of Provence-Alpes-Côte-d'Azur Region, France. *Atmos Environ* 2019 ; 204 : 102-9.

Reboud X, Blanck M, Aubertot JN, *et al*. *Usage et alternatives au glyphosate dans l'agriculture française - Rapport :* Inra, 2017 : 88 p

Rendon-von Osten J, Dzul-Caamal R. Glyphosate residues in groundwater, drinking water and urine of subsistence farmers from intensive agriculture localities: a survey in Hopelchén, Campeche, Mexico. *Int J Environ Res Public Health* 2017 ; 14 : 595.

Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, *et al*. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 716-20.

Roberts DM, Buckley NA, Mohamed F, *et al*. A prospective observational study of the clinical toxicology of glyphosate-containing herbicides in adults with acute self-poisoning. *Clin Toxicol (Phila)* 2010 ; 48 : 129-36. •••

Romano MA, Romano RM, Santos LD, *et al*. Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Arch Toxicol* 2012 ; 86 : 663-73.

Rossberger S. *Glyphosate: DNA repair test with primary rat hepatocytes Report : 931564, TOX9400697/ TOX9551099 [unpublished]*, 1994. •

Roustan A, Aye M, De Meo M, *et al*. Genotoxicity of mixtures of glyphosate and atrazine and their environmental transformation products before and after photoactivation. *Chemosphere* 2014 ; 108 : 93-100.

Rubio F, Veldhuis LJ, Clegg BS, *et al*. Comparison of a direct ELISA and an HPLC method for glyphosate determinations in water. *J Agric Food Chem* 2003 ; 51 : 691-6.

Rugarli EI, Langer T. Mitochondrial quality control: a matter of life and death for neurons. *EMBO J* 2012 ; 31 : 1336-49.

Schinasi L, Leon M. Non-Hodgkin lymphoma and occupational exposure to agricultural pesticide chemical groups and active ingredients: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2014 ; 11 : 4449-527.

Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, *et al*. Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environ Sci Eur* 2014 ; 26 : 14.

Shehata AA, Schrödl W, Aldin AA, *et al*. The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota in itro. *Curr Microbiol* 2013 ; 66 : 350-8.

Shrestha S, Parks CG, Goldner WS, *et al*. Incident thyroid disease in female spouses of private pesticide applicators. *Environ Int* 2018a ; 118 : 282-92.

Shrestha S, Parks CG, Goldner WS, *et al*. Pesticide use and incident hypothyroidism in pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2018b ; 126 : 97008.

Silva V, Montanarella L, Jones A, *et al*. Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union. *Sci Total Environ* 2018 ; 621 : 1352-9.

Smpokou ET, Gonzalez-Quiroz M, Martins C, *et al*. Environmental exposures in young adults with declining kidney function in a population at risk of Mesoamerican nephropathy. *Occup Environ Med* 2019 ; 76 : 920-6.

Sorahan T. Multiple myeloma and glyphosate use: a re-analysis of US Agricultural Health Study (AHS) data. *Int J Environ Res Public Health* 2015 ; 12 : 1548-59. ••

Sribanditmongkol P, Jutavijittum P, Pongraveevongsa P, *et al*. Pathological and toxicological findings in glyphosate-surfactant herbicide fatality: a case report. *Am J Forensic Med Pathol* 2012 ; 33 : 234-7.

Sritana N, Suriyo T, Kanitwithayanun J, *et al*. Glyphosate induces growth of estrogen receptor alpha positive cholangiocarcinoma cells via non-genomic estrogen receptor/ERK1/2 signaling pathway. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 595-607.

Stout L, Ruecker PA. *Chronic study of glyphosate administered in feed to albino rats. MRID No. 41643801 ; Historical Controls. MRID 41728700. [Unpublished]*, 1990. •

Stur E, Aristizabal-Pachon AF, Peronni KC, *et al*. Glyphosate-based herbicides at low doses affect canonical pathways in estrogen positive and negative breast cancer cell lines. *PLoS One* 2019 ; 14 : e0219610.

Sugimoto K. *HR-001 : 18-Month oral oncogenicity study in mice, Vol. 1 and 2. The Institute of Environmental Toxicology, 2-772, Suzuki-cho, Kodaira-shi, Tokyo, 187, Japan, Study No. : IET 94-0151. MRID 50017108, 50017109. [unpublished]*, 1997. •

Suresh TP. *Combined chronic toxicity and carcinogenicity study with glyphosate technical in Wistar rats. Toxicology Department Rallis Research Centre, Rallis India Limited, TOXI-1559, 002/1-GPT-CARCI-M. MRID 49987401. [Unpublished]*, 1996. •

Székács A, Darvas B. Chapter 14 - Forty years with glyphosate. In : Mohammed Naguib Abd El-Ghany Hasaneen, ed. *Herbicides: Properties, synthesis and control of weeds:* IntechOpen, 2012.

Takeuchi S, Iida M, Yabushita H, *et al*. In vitro screening for aryl hydrocarbon receptor agonistic activity in 200 pesticides using a highly sensitive reporter cell line, DR-EcoScreen cells, and in vivo mouse liver cytochrome P450-1A induction by propanil, diuron and linuron. *Chemosphere* 2008 ; 74 : 155-65.

Talbot AR, Shiaw MH, Huang JS, *et al*. Acute poisoning with a glyphosate-surfactant herbicide (« Roundup »): a review of 93 cases. *Hum Exp Toxicol* 1991 ; 10 : 1-8.

Tarazona JV, Court-Marques D, Tiramani M, *et al*. Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC. *Arch Toxicol* 2017 ; 91 : 2723-43.

Tarone RE. On the International Agency for Research on Cancer classification of glyphosate as a probable human carcinogen. *Eur J Cancer Prev* 2018 ; 27 : 82-7. ●●●●

Thongprakaisang S, Thiantanawat A, Rangkadilok N, *et al*. Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 59 : 129-36.

Tong M, Gao W, Jiao W, *et al*. Uptake, translocation, metabolism, and distribution of glyphosate in nontarget tea plant (Camellia sinensis L.). *J Agric Food Chem* 2017 ; 65 : 7638-46.

Townsend M, Peck C, Meng W, *et al*. Evaluation of various glyphosate concentrations on DNA damage in human Raji cells and its impact on cytotoxicity. *Regul Toxicol Pharmacol* 2017 ; 85 : 79-85.

van Bruggen AHC, He MM, Shin K, *et al*. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Sci Total Environ* 2018 ; 616-617 : 255-68.

Vandentorren S, Guldner L. *Dosage des biomarqueurs en maternité dans le cadre de l'enquête pilote Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance), octobre 2007*. Saint-Maurice, France : Institut de veille sanitaire, 2013 : 47 p [consulté le 13/01/20 : https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/182199/2306221].

Vandentorren S, Bois C, Pirus C, *et al*. Rationales, design and recruitment for the Elfe longitudinal study. *BMC Pediatr* 2009 ; 9 : 58.

Vanlaeys A, Dubuisson F, Seralini G-E, *et al*. Formulants of glyphosate-based herbicides have more deleterious impact than glyphosate on TM4 Sertoli cells. *Toxicol In Vitro* 2018 ; 52 : 14-22.

von Ehrenstein OS, Ling C, Cui X, *et al*. Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: population based case-control study. *BMJ* 2019 ; 364 : l962.

Walsh LP, McCormick C, Martin C, *et al*. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ Health Perspect* 2000 ; 108 : 769-76.

Wang S, Liu B, Yuan D, *et al*. A simple method for the determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in seawater matrix with high performance liquid chromatography and fluorescence detection. *Talanta* 2016 ; 161 : 700-6.

Wan N, Lin G. Parkinson's disease and pesticides exposure: new findings from a comprehensive study in Nebraska, USA. *J Rural Health* 2016 ; 32 : 303-13.

Weisskopf MG, Moisan F, Tzourio C, *et al*. Pesticide exposure and depression among agricultural workers in France. *Am J Epidemiol* 2013 ; 178 : 1051-8.

Wester RC, Melendres J, Sarason R, *et al*. Glyphosate skin binding, absorption, residual tissue distribution, and skin decontamination. *Fundam Appl Toxicol* 1991 ; 16 : 725-32.

Wood E, Dunster J, Watson P, *et al*. *Glyphosate technical: dietary combined chronic toxicity/carcinogenicity study in the rat. Harlan Laboratories Limited, Shardlow Business Park, Shardlow, Derbyshire DE72 2GD, UK. Study No. 2060-012. April, 23, 2009. MRID 49957404. [Unpublished]*, 2009a. •

Wood E, Dunster J, Watson P, *et al*. *Wood, glyphosate technical: dietary carcinogenicity study in the mouse. Harlan Laboratories Limited, Shardlow Business Park, Shardlow, Derbyshire DE72 2GD, UK. Study No. 2060-011. MRID 49957402. [unpublished]*, 2009b. •

Woźniak E, Sicińska P, Michałowicz J, *et al*. The mechanism of DNA damage induced by Roundup 360 PLUS, glyphosate and AMPA in human peripheral blood mononuclear cells - genotoxic risk assessement. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 120 : 510-22.

Xie L, Thrippleton K, Irwin MA, *et al*. Evaluation of estrogenic activities of aquatic herbicides and surfactants using an rainbow trout vitellogenin assay. *Toxicol Sci* 2005 ; 87 : 391-8.

Yoshioka N, Asano M, Kuse A, *et al*. Rapid determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos, and their major metabolites in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography. *J Chromatogr A* 2011 ; 1218 : 3675-80.

Yu N, Tong Y, Zhang D, *et al*. Circular RNA expression profiles in hippocampus from mice with perinatal glyphosate exposure. *Biochem Biophys Res Commun* 2018 ; 501 : 838-45.

Zhang L, Rana I, Shaffer RM, *et al*. Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis and supporting evidence. *Mutat Res* 2019 ; 781 : 186-206.

Zhang S, Xu J, Kuang X, *et al*. Biological impacts of glyphosate on morphology, embryo biomechanics and larval behavior in zebrafish (Danio rerio). *Chemosphere* 2017 ; 181 : 270-80.

Zoller O, Rhyn P, Zarn JA, *et al*. Urine glyphosate level as a quantitative biomarker of oral exposure. *Int J Hyg Environ Health* 2020 ; 228 : 113526.

Zouaoui K, Dulaurent S, Gaulier JM, *et al*. Determination of glyphosate and AMPA in blood and urine from humans: about 13 cases of acute intoxication. *Forensic Sci Int* 2013 ; 226 : e20-5.

20
Fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase

Préambule

Les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHi) sont devenus ces dernières années un sujet de préoccupation pour les autorités sanitaires comme pour le grand public à la suite d'une alerte[96] lancée par un collectif de chercheurs et de médecins, incluant notamment des spécialistes de la fonction mitochondriale, des cancérologues, et des toxicologues. Ce collectif s'appuie sur le mécanisme d'action de ces pesticides pour avancer l'hypothèse qu'ils pourraient, en raison de leur capacité à perturber la fonction mitochondriale des espèces non-cibles, présenter un risque pour la santé humaine ou l'environnement.

Cette hypothèse repose sur des publications scientifiques remontant au début des années 1990 qui montrent que des déficiences dans l'activité de la SDH, génétiquement déterminées, sont responsables de maladies humaines rares. Ces maladies, qui ont pour étiologie des dysfonctionnements mitochondriaux à l'origine de certaines formes de cancer et de pathologies neurologiques, sont décrites en détail dans ce chapitre. Ceci permet de mieux comprendre l'hypothèse selon laquelle l'inhibition chimique de cette enzyme pourrait avoir des conséquences néfastes sur la santé humaine dans le cas de l'exposition professionnelle ou environnementale aux fongicides SDHi.

Cette alerte a conduit à une autosaisine de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) dont l'objectif était de déterminer s'il y avait une alerte sanitaire au regard des données scientifiques disponibles. Le résultat de cette expertise, sur la base des données issues de la littérature scientifique, des évaluations européennes des substances et de la phytopharmacovigilance, concluait à l'absence

96. Bénit P, Chrétien D, Rak M, et coll. Une révolution urgente semble nécessaire dans l'usage des antifongiques. Tribune publiée dans *Libération* le 15 avril 2018. https://www.liberation.fr/debats/2018/04/15/une-revolution-urgente-semble-necessaire-dans-l-usage-des-antifongiques_1643539 [consulté le 17 octobre 2020].

« d'éléments en faveur de l'existence d'une alerte sanitaire qui conduirait au retrait des autorisations de mise sur le marché » des fongicides SDHi (Anses, 2019).

Afin d'apporter des éléments complémentaires pour éclairer et apprécier les dangers liés aux fongicides SDHi, l'expertise de l'Inserm consacre un chapitre spécifique à ces substances pour analyser l'ensemble des données scientifiques disponibles de façon interdisciplinaire. Parmi ces disciplines figurent *i*) l'expologie qui prend en compte des facteurs tels que la dégradation, la concentration ou la transformation des SDHi qui déterminent leur devenir et leur persistance dans l'environnement et donc l'exposition des populations, *ii*) la toxicologie qui permet d'aborder les effets d'une exposition à une substance sur des modèles *in silico*, *in vitro* et *in vivo* en tenant compte de la toxicocinétique des substances (processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion), et *iii*) l'épidémiologie afin d'aborder l'estimation du risque associé à l'exposition aux SDHi chez des populations qui peuvent différer en fonction de leur sensibilité, et où les effets peuvent parfois prendre des années à se manifester. Cette évaluation s'inscrit pleinement dans la mission de l'expertise collective Inserm d'apporter un éclairage scientifique indépendant sur des questions précises de santé, dans une perspective d'aide à la décision publique.

Introduction

Les pesticides sont largement utilisés en agriculture pour améliorer les rendements, la qualité et l'aspect des produits, en détruisant des organismes jugés nuisibles tels que des insectes (insecticides), des champignons (fongicides) ou des plantes adventices (herbicides). Ils agissent sur des fonctions vitales des organismes cibles, entraînant un dysfonctionnement létal ou une incapacité à se reproduire. Ils varient selon leur mode d'application (traitements aériens ou de semences) et peuvent être classés selon leur structure chimique (organochlorés, organophosphorés, thiocarbamates, pyréthrinoïdes, phénylamides, acides phénoxy-alcanoïques, triazines, phtalimides, pyridines...), ou leur organisme cible[97].

97. Des informations générales présentées dans l'introduction et l'annexe de ce texte sont reprises à partir de la thèse de docteur en médecine de Marie CADET. Sa thèse, menée sous la direction de Fabrice HERIN et intitulée « *Exposition professionnelle aux inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (toxicité aiguë et chronique). Une revue systématique de la littérature* », a été soutenue à l'Université Toulouse III en octobre 2019, disponible en ligne à : http://thesesante.ups-tlse.fr/2810 [consulté le 11 mai 2020].

De par leur usage, les pesticides peuvent constituer une source de contamination environnementale de l'air, de l'eau et des sols, et par conséquent des faunes et des flores associées. Ces contaminations environnementales engendrent une exposition humaine qui varie aussi selon les propriétés chimiques des molécules et leurs modes d'absorption. L'évolution de l'agriculture en France (spécialisation des exploitations, mécanisation, recherche et développement...) a conduit à une augmentation de leur usage et, par conséquent, de la contamination de ces compartiments environnementaux, avec parfois une rémanence de nombreuses années après l'arrêt de leur utilisation en raison de la faible dégradation biotique ou abiotique de certaines molécules (Aubertot et coll., 2005).

Les inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (*succinate dehydrogenase inhibitors*, SDHi), qui font l'objet de ce chapitre, sont des fongicides utilisés pour lutter contre la prolifération de moisissures dans les productions agricoles. Les moisissures ont des effets néfastes sur la santé humaine et animale : elles sont responsables d'infections (généralement de type opportuniste) et peuvent provoquer des allergies, des irritations, et des symptômes respiratoires. Certaines synthétisent des métabolites (par exemple, aflatoxines, ochratoxines...) ayant des effets hépatotoxiques (notamment cancérogènes), immunotoxiques, néphrotoxiques ou neurotoxiques, en particulier dans le cas d'ingestion à long terme (Afssa, 2009). La contamination par les moisissures des cultures, des fruits et des légumes est un enjeu de santé publique (Lee et Ryu, 2017), particulièrement dans un contexte de réchauffement climatique de nature à favoriser leur développement (Battilani et coll., 2016). L'usage des fongicides est croissant et tend à s'élargir, d'autant que l'on découvre que certains possèdent, en plus de leurs propriétés antifongiques, des propriétés insecticides et antiparasitaires (Sakai et coll., 2012 ; Inaoka et coll., 2015 ; Ren et coll., 2018). L'usage important des fongicides a conduit au développement de champignons résistants, nécessitant une utilisation encore accrue, la production de nouvelles molécules ou l'association de plusieurs fongicides pour le traitement des cultures et produits de l'agriculture (Lucas et coll., 2015).

Il existe une grande variété de modes d'action des fongicides[98]. Certains fongicides, dont plusieurs qui sont utilisés depuis des décennies, sont « multisites », c'est-à-dire qu'ils visent plusieurs cibles biochimiques au sein de la cellule fongique. Parmi cette catégorie figurent des fongicides minéraux à

98. Le FRAC, un organisme représentant l'industrie agrochimique pour des questions techniques et scientifiques relatives à la résistance aux fongicides, publie chaque année une classification (« *code list* ») des substances actives. Le document est disponible à : https://www.frac.info/knowledge-database/downloads [consulté le 11 février 2021].

base de soufre ou de cuivre (largement employés en agriculture biologique) ainsi que des fongicides organiques de synthèse, par exemple ceux appartenant à la famille des dithiocarbamates (mancozèbe, zirame...). La plupart des fongicides sont « uni-site » et agissent en induisant les réactions de défense de la plante hôte ou en perturbant un processus biologique essentiel à la vie cellulaire ; par exemple la respiration, le métabolisme des acides nucléiques, la dynamique du cytosquelette, la synthèse protéique, la transduction de signaux, la synthèse ou le transport des lipides, l'intégrité ou la fonction des membranes, la biosynthèse de la paroi cellulaire ou des stérols destinés aux membranes.

Environ un quart des fongicides recensés par le *Fungicide Resistance Action Committee* (FRAC) ciblent la respiration cellulaire, un ensemble de réactions qui permettent la production d'ATP, la molécule clef de l'énergétique cellulaire, et qui ont lieu dans les mitochondries (la structure et la fonction des mitochondries sont présentées en détail dans l'addenda en fin de chapitre : paragraphe « Mitochondrie et chaîne respiratoire »). Ils sont représentés par environ 60 substances actives, classées en huit sous-groupes selon leur site d'action : agents affectant la biodisponibilité de l'ATP, inhibiteurs du complexe I, II ou III de la chaîne respiratoire (ce dernier constitué de trois sous-groupes ciblant différents sites) et les découplants ou inhibiteurs de la phosphorylation oxydative. Les fongicides visant le complexe II de la chaîne respiratoire exercent leurs effets en inhibant directement l'activité succinate : ubiquinone oxydoréductase, ci-après dénommée « succinate déshydrogénase » (SDH) et décrite ci-dessous.

La succinate déshydrogénase : enzyme clé de la chaîne respiratoire

Complexe II de la chaîne respiratoire

Les succinate-ubiquinone oxydoréductases (SQR) sont regroupées dans 5 classes (A à E) d'après le nombre de sous-unités hydrophobes et de groupements héminiques (Lemos et coll., 2002). La SQR mitochondriale (complexe II) appartient à la classe C avec un groupe hème et deux sous-unités transmembranaires. Le complexe II, localisé dans la membrane interne de la mitochondrie, participe à deux processus métaboliques interconnectés assurant la production d'énergie : la respiration cellulaire où elle permet le transfert d'électrons vers l'ubiquinone ou coenzyme Q, et le cycle de Krebs où elle catalyse l'oxydation du succinate en fumarate. Le complexe II est composé de quatre sous-unités protéiques SDHA, B, C, D et de quatre

cofacteurs d'assemblage SDHAF1, SDHAF2, SDHAF3 et SDHAF4 tous exclusivement codés par le génome nucléaire (Ackrell, 2000 ; Moosavi et coll., 2019). Les facteurs d'assemblage SDHAF2 et SDHAF4 facilitent la maturation de la sous-unité SDHA, alors que les facteurs SDHAF1 et SDHAF3 participent à la réaction d'insertion du centre fer-soufre dans la sous-unité SDHB. Les sous-unités SDHA et B sont localisées dans le compartiment matriciel de la mitochondrie (figure 20.1). La SDHA humaine est une flavoprotéine de 72 kDa (664 acides aminés ; aa) comportant un groupe prosthétique flavine adénine dinucléotide (FAD) fixé par liaison covalente. La SDHB est une protéine fer-soufre de 32 kDa (280 aa) qui comporte trois centres fer-soufre ($[2Fe\text{-}2S]^{2+/1+}$, $[4Fe\text{-}4S]^{2+/1+}$ et $[3Fe\text{-}4S]^{2+/0}$). Les sous-unités SDHC et SDHD sont des protéines de respectivement 19 kDa (169 aa) et 17 kDa (159 aa), qui possèdent un groupement hème enchâssé entre leurs hélices transmembranaires. Intégrées à la membrane interne mitochondriale, elles ancrent les sous-unités A et B dans la membrane, conférant à la SDH une structure tétramérique. Concernant les aspects mécanistiques du fonctionnement de la SQR mitochondriale (complexe II), le succinate est oxydé en fumarate par la SDHA, ce qui s'accompagne de la réduction du FAD en $FADH_2$. Puis le $FADH_2$ transfère les électrons aux centres fer-soufre de la SDHB et le coenzyme Q est à son tour réduit. Les inhibiteurs spécifiques d'activité du complexe II se lient au site de liaison soit du succinate (SDHA), soit de l'ubiquinone (dénommé Q-site). Les composés agissant comme inhibiteurs compétitifs en se liant au Q-site ont été utilisés pour des études structurales du complexe II tels que le thénoyltrifluoroacétone (TTFA), et l'atpenin (Miyadera et coll., 2003 ; Sun et coll., 2005), groupe dans lequel se trouvent les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase.

Chez l'être humain, quatre gènes codent les quatre sous-unités du complexe II : *SDHA* (15 exons, chromosome 5p15), *SDHB* (8 exons, chromosome 1p35), *SDHC* (6 exons, chromosome 1q23) et *SDHD* (4 exons, chromosome 11q23). Les sites de reconnaissance pour les facteurs de transcription NRF-1, NRF-2 et Sp1, sont communs à la plupart des promoteurs des gènes nucléaires codant les composants de la chaîne respiratoire, ainsi qu'à certaines des enzymes anti-oxydantes, plusieurs des enzymes biosynthétiques hémiques et certains composants de l'appareil mitochondrial. Bien que les sites de liaison à NRF-1 se trouvent dans la région promotrice des quatre gènes SDH, les sites de liaison de NRF-2 et de Sp1 ne sont pas présents dans les promoteurs *SDHA* et *SDHC*, respectivement. Les promoteurs des gènes *SDHA* et *SDHB* possèdent également des éléments de réponse au fer (IRE ou « *Iron Responsive Element* ») dans leur région promotrice, ce qui suggère leur implication potentielle dans l'homéostasie du fer cellulaire et/ou mitochondrial (Brière et coll., 2005).

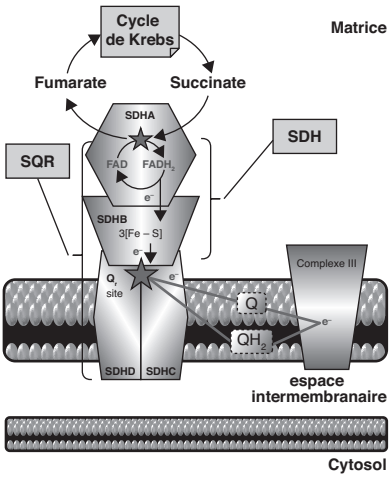


Figure 20.1 : Schéma récapitulant la structure et le fonctionnement de la succinate-ubiquinone oxydoréductase (SQR) mitochondriale (complexe II) (d'après Lemarie et Grimm, 2011)

Les sous-unités SDHA et SDHB catalysent l'oxydation du succinate en fumarate (une réaction faisant partie du cycle de Krebs ou *tricarboxylic acid cycle* ; TCA). Les électrons récupérés sont transférés au cofacteur FAD (associé à SDHA) puis aux centres fer-soufre (Fe-S, associé à SDHB), et conduisent à la réduction de l'ubiquinone (coenzyme Q ; CoQ) en ubiquinol (QH2) par l'activité succinate CoQ réductase (SQR).
(Figure traduite de l'anglais)

Pathologies liées à des mutations dans des gènes codant pour la succinate déshydrogénase

Chez l'être humain, le déficit héréditaire dans l'une des sous-unités de la SDH dont les premiers cas ont été décrits dans les années 1990, est une cause de maladie mitochondriale, avec de façon fréquente des atteintes neurologiques de l'enfant. Il est également rapporté des cas de cardiopathies (Courage et coll., 2017), de leucodystrophies (Alston et coll., 2012), d'encéphalopathies (Ma et coll., 2014), ainsi que des cancers (Baysal et coll., 2000 ; Habano et coll., 2003 ; Neumann et coll., 2004 ; Malinoc et coll., 2012 ; Dwight et coll., 2013b ; Dwight et coll., 2013a ; Killian et coll., 2013 ; Letouzé et coll., 2013 ; Ni et coll., 2015 ; Bausch et coll., 2017 ; Calió et coll., 2017 ; Lussey-Lepoutre et coll., 2017) (tableau 20.I).

Tableau 20.I : Maladies associées aux mutations dans les gènes codant les sous-unités de la SDH (d'après Bénit et coll., 2018)

Gène	Phénotype tumoral	Maladies non cancéreuses
SDHA	Adénome hypophysaire, Paragangliome/Phéochromocytome, Carcinome rénal	Syndrome de Leigh, Atrophie optique, Ataxie, Cardiomyopathie, Encéphalopathie
SDHB	Paragangliome/Phéochromocytome, Carcinome rénal, Tumeur gastro-intestinale, Syndrome de Carney-Stratakis, Syndrome de Cowden	Leucodystrophie
SDHC	Cancer du rein à cellules claires, Paragangliome/Phéochromocytome, Syndrome de Carney-Stratakis	
SDHD	Paragangliome/Phéochromocytome, Syndrome de Carney-Stratakis, Cancer du rein, Syndrome de Cowden	Encéphalomyopathie

Chez les patients présentant une mutation constitutionnelle hétérozygote sur l'un des gènes codant une sous-unité de la SDH (dans toutes les cellules de leur organisme) et porteurs d'une tumeur, l'inactivation complète de la SDH (dans la cellule cancéreuse) peut se produire suite à une perte d'hétérozygotie, le plus souvent liée à la perte de la région chromosomique incluant l'allèle sauvage (Gimenez-Roqueplo et coll., 2003 ; Burnichon et coll., 2010). Ces deux évènements génétiques sont responsables d'une perte de l'activité SDH, conduisant à une accumulation massive de succinate (Pollard et coll., 2005).

Longtemps essentiellement associées à des maladies neurologiques (encéphalopathies, leucodystrophies) (Parfait et coll., 2000 ; Alston et coll., 2012 ; Ohlenbusch et coll., 2012) et des cardiomyopathies (Levitas et coll., 2010), les mutations des gènes *SDHx* (*SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, ou *SDHD*) ont été identifiées dans des formes familiales de phéochromocytomes (PCC) et paragangliomes (PGL) au début des années 2000 (Baysal et coll., 2000 ; Neumann et coll., 2004). Les PCC et PGL sont des tumeurs rares, dérivées des cellules chromaffines, qui se développent dans les glandes médullo-surrénales et dans les ganglions des systèmes nerveux parasympathique et sympathique au niveau de la tête, du cou et du pelvis (Gimenez-Roqueplo, 2006). Comparés aux autres cancers, les PCC et les PGL sont caractérisés par un déterminisme génétique très particulier. À ce jour, plus de 15 gènes de susceptibilité ont été identifiés incluant 2 oncogènes (*RET* et *HIF2A*) et des gènes suppresseurs de tumeur (*NF1*, *VHL*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SDHAF2*, *FH*, *TMEM127*, *MAX*, *MDH2*, *SLC25A11*, *GOT2*, *DNMT3A*). Plus de 40 % des patients porteurs d'un PGL ou un PCC possèdent une mutation germinale sur l'un de ces gènes (Dahia, 2014). De plus, les mutations constitutionnelles

affectant les gènes codant la SDHB ou la fumarate hydratase sont associées à un risque augmenté de métastases (Gimenez-Roqueplo et coll., 2003 ; Amar et coll., 2007 ; Castro-Vega et coll., 2014). Les gènes codant les sous-unités SDHB, SDHC et SDHD sont les gènes majeurs de susceptibilité des PGL et PCC. Sur une cohorte de 1 832 patients référencés avec un dépistage génétique en raison d'une histoire familiale de PGL ou PCC, 876 d'entre eux présentaient une mutation dans les gènes *SDHB*, *SDHC* et *SDHD* pour 673, 43 et 160 cas, respectivement (Andrews et coll., 2018). Parmi les 876 mutations, il est observé une minorité de délétions ou de duplications et une majorité de mutations ponctuelles intragéniques dont 44 % de faux-sens. Il est à noter que la pénétrance des mutations dans le gène *SDHB* est incomplète. Par ailleurs, des mutations « perte de fonction » dans les gènes codant NF1 ou VHL, ainsi que des mutations activant les oncogènes RET, HIF2A ou HRAS ont été décrites au niveau somatique dans environ 30 % de ces tumeurs (Burnichon et coll., 2012 ; Favier et coll., 2012 ; Crona et coll., 2013 ; Oudijk et coll., 2014).

D'autres types de tumeurs impliquant des mutations *SDHx* ont été décrites, incluant des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) (Miettinen et Lasota, 2014), des tumeurs rénales, des tumeurs thyroïdiennes, des mélanomes, des sarcomes, des tumeurs coliques, des neuroblastomes (Dubard Gault et coll., 2018 ; Gill, 2018), des tumeurs neuroendocrines pancréatiques, des ganglioneuromes et des triades de Carney (Bezawork-Geleta et coll., 2017).

Dans la pathologie cancéreuse, les déficits en SDH ne sont pas uniquement liés à l'inactivation d'une sous-unité de l'enzyme par mutation. Il est ainsi rapporté quelques cas de déficits en SDH chez des patients présentant une GIST ou un PGL sans aucune mutation dans les gènes *SDHx* mais impliquant une régulation négative du niveau d'expression de l'ARNm codant la SDHC *via* une hyperméthylation de l'ADN affectant le promoteur de ce gène dans la tumeur, mais pas dans les tissus sains (Urbini et coll., 2015 ; Casey et coll., 2019). La diminution du niveau d'ARNm peut également être liée à l'augmentation d'expression de microARN (miARN) ciblant les ARNm codant les différentes sous-unités de la SDH, notamment miR-210 (SDHD), miR-31 (SDHA) et miR-378 (SDHB) (Eichner et coll., 2010 ; Puisségur et coll., 2011 ; Kelly et coll., 2013 ; Tsang et coll., 2014 ; Lee et coll., 2016 ; Merlo et coll., 2017).

Enfin, dans le but de générer des modèles animaux de PGL et PCC, plusieurs groupes ont utilisé une approche d'invalidation génique pour inactiver les gènes codant les sous-unités de la SDH chez les souris (Piruat et Millán-Uclés, 2014 ; Lepoutre-Lussey et coll., 2016) ou les rats (Siebers et coll., 2018 ; Powers et coll., 2020). À ce jour, les résultats de ces études montrent

que les animaux porteurs d'une mutation hétérozygote ne présentent aucune prédisposition au cancer comparable à celle décrite chez l'être humain.

Les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHi)

Les fongicides SDHi sont des agents à large spectre utilisés pour lutter contre les basidiomycètes, adélomycètes et ascomycètes. Ils sont représentés par une vingtaine de molécules partageant un même mécanisme d'action plutôt qu'une même structure. Néanmoins, ces fongicides SDHi sont tous des dérivés de structure amide (R1-CO-HN-R2) avec un groupement acide (R1) et un groupement amine (R2). Sept classes peuvent être définies sur la base de leur structure chimique et du groupement acide de la molécule : les benzamides (fluopyram, flutolanil), les furane carboxamides (fenfurame), les oxathiine carboxamides (carboxine, oxycarboxine), les pyrazole carboxamides (bixafène, penthiopyrade...), pyridine carboxamides (boscalide), thiazole carboxamides (thifluzamide) et pyrazine carboxamides (pyraziflumid). Les benzamides peuvent être subdivisés en deux sous-groupes sur la base du groupement amine : phényle benzamides (flutolanil) et pyridinyl éthylbenzamides (fluopyram). Les structures de quelques substances actives représentatives sont illustrées dans la figure 20.2.

Utilisation des SDHi en France

Le FRAC recense 23 substances actives SDHi (FRAC, 2020). Parmi elles, 12 sont autorisées en France en octobre 2020 avec des utilisations en traitement des parties aériennes, des semences, des sols ou des plants/tubercules (tableau 20.II). À noter que deux substances actives, la carboxine et le penflufène, sont autorisées sans que des spécialités commerciales les contenant ne soient autorisés en France ; au total, 42 formulations commerciales contenant de la carboxine et précédemment autorisées en France (premiers usages à la fin des années 1960) ont été retirées en 2018[99]. Les produits correspondants ne sont plus distribués depuis mi-2019 et ne doivent plus être utilisés depuis fin janvier 2020. L'autorisation de quatre substances actives SDHi, le bénodanil, le fenfurame, le mépronil et l'oxycarboxine, a été retirée par le règlement (CE) n° 2076/2002 de la Commission du 20 novembre 2002[100]

99. D'après la base de données E-Phy de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) disponible à l'adresse : https://ephy.anses.fr/ [consulté le 11 mai 2020].
100. Cette information est donnée pour chacune de ces substances actives dans le *EU Pesticide Database*, disponible à l'adresse https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database [consulté le 11 mai 2020].

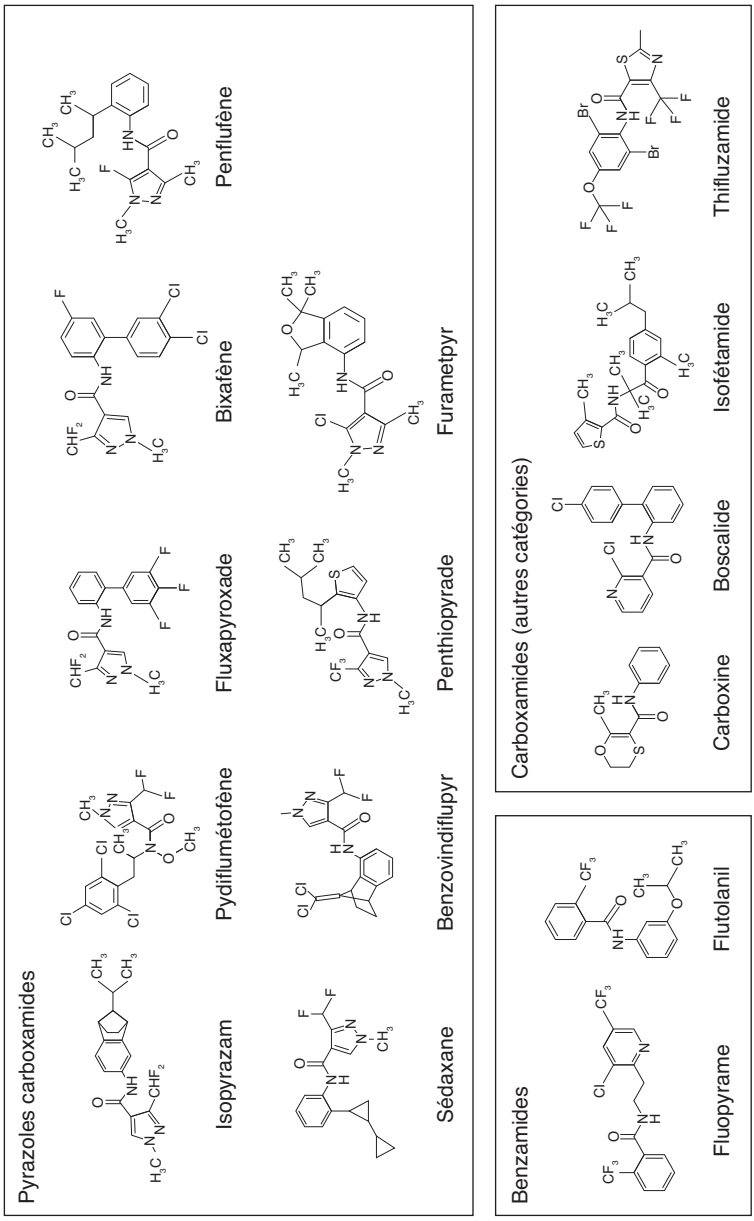


Figure 20.2 : Illustration des structures chimiques représentatives des principaux SDHi

Toutes ces molécules sont des dérivés de structure amide (R1-CO-HN-R2).

(tableau 20.III). Le bénodanil a été autorisé sur les cultures ornementales entre 1983 et 1987. Le fenfurame a été autorisé pour la protection des plaies de taille et le traitement des semences entre 1983 et 1997. Le mépronil a été autorisé pour le traitement des sols, le traitement des semences et les cultures légumières entre 1986 et 2003 et l'oxycarboxine a été autorisée sur les cultures ornementales entre 1973 et 2002[101]. Il existe neuf substances actives appartenant à la famille des SDHi non autorisées au niveau européen mais autorisées dans d'autres pays (voir addenda en fin de chapitre : tableau A20.I). Parmi ces substances actives, quatre sont en cours d'examen dans le processus d'autorisation de mise sur le marché au niveau européen : le pydiflumétofène, l'isoflucyprame, l'inpyrfluxame et le fluindapyr[102]. Deux substances actives SDHi, le furametpyr et le thifluzamide, ont fait l'objet d'une demande d'enregistrement préalable auprès de l'Agence européenne des produits chimiques (*European Chemicals Agency* ; Echa) au titre de la directive REACH[103]. Elles ne sont pas autorisées pour une utilisation en tant que produit phytopharmaceutique. Enfin, aucun renseignement n'est disponible au niveau européen sur le pyraziflumid, qui a été homologué en mars 2018 par le Japon et dont l'examen par la réunion conjointe FAO/OMS sur les résidus de pesticides était prévu en 2020[104].

Selon les données de la Banque nationale des ventes de distributeurs, les ventes de SDHi en France se situent entre 500 et 700 tonnes de substance active par an depuis 2008[105]. Le boscalide, qui représentait près de 600 tonnes en 2009 (Anses, 2019), reste le plus vendu en 2018 avec 230 tonnes, sa part ayant progressivement diminué au profit d'autres SDHi, notamment le

101. Les informations sur l'usage de bénodanil, fenfurame, mépronil et d'oxycarboxine proviennent de la base CIPA (Compilation des index phytosanitaires ACTA), un outil du programme Matphyto disponible à l'adresse http://matphyto.acta-informatique.fr/ [consulté le 1er avril 2020].
102. L'avancée des procédures d'autorisation de mise sur le marché peut notamment être suivie au travers de l'agenda et des résumés des réunions du Comité permanent des végétaux, des animaux, des denrées alimentaires et de l'alimentation animale, section produits phytopharmaceutiques, à l'adresse
https://ec.europa.eu/food/plant/standing_committees/sc_phytopharmaceuticals_en
[consulté le 1er avril 2020]. Ainsi, les résumés des réunions du 11-12 juillet 2016, du 19-20 juillet 2018, du 20-21 mai 2019 et du 16-17 juillet 2019 font respectivement part de l'admissibilité des dossiers du pydiflumétofène, de l'isoflucypram, de l'inpyrfluxame et du fluindapyr. Le pydiflumétofène, pour lequel la procédure est la plus avancée, était récemment à l'agenda des réunions du 21-22 octobre 2019 et du 5-6 décembre 2019 suite à l'avis rendu par l'Efsa en septembre 2019 (Efsa, 2019).
103. Le furametpyr et le thifluzamide ont été préenregistrés le 31/05/2018 (https://echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals/pre-registered-substances) [consulté le 1er avril 2020].
104. http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/2020_Call_for_data_Final.pdf
[consulté le 10 juin 2020].
105. https://www.data.gouv.fr/en/datasets/ventes-de-pesticides-par-departement/ [consulté le 10 juin 2020].

fluopyram, le fluxapyroxade, et le bixafène, avec respectivement 185, 161 et 97 tonnes de substance active vendues en 2018.

D'après les données des enquêtes « Pratiques culturales » réalisées par le ministère français de l'Agriculture et de l'Alimentation[106] (qui donnent des informations sur les utilisations de substances actives hors traitements de semence), les SDHi sont utilisés sur des cultures diverses. Ainsi, pour les années enquêtées, le boscalide est appliqué au moins une fois sur environ 80 % des surfaces de colza (données 2014), 51 % des surfaces de carottes (données 2013), 30 % des surfaces de fraises, salades (données 2013) et pommes (données 2012), 20 % des surfaces de vigne (données 2014) (11 % en 2011), melons et poireaux (données 2013), et 10 % des surfaces de blé tendre et orge (données 2014) (30 % en 2011). Le fluxapyroxade est associé à 38 % des surfaces en blé tendre traitées avec le moins une fois en 2014 et 24 % des surfaces en orge la même année. Le bixafène est associé à 38 % des surfaces en orge traitées au moins une fois en 2014 et 22 % des surfaces en blé tendre la même année. Ces données (obtenues sur un échantillon de parcelles agricoles) ne montrent pas de surfaces traitées avec le fluopyram (surtout vendu après 2014, date de la dernière enquête qui était disponible début 2019), le sédaxane, le benzovindiflupyr ou le penthiopyrade (Anses, 2019).

Parmi les 149 spécialités commerciales autorisées en France[107] contenant une substance active SDHi, la plupart le sont au titre de leur seule fonction fongicide. Deux spécialités commerciales contenant le fluopyram comme unique substance active sont autorisées également pour leur fonction nématicide[108]. Quatre spécialités contenant du boscalide en association avec la pyraclostrobine (famille des strobilurines), sont autorisées à la fois pour leur fonction fongicide et pour leur fonction de régulateur de croissance[109]. La littérature scientifique récente montre que le complexe SDH représente une cible pour la sélection de nouveaux insecticides (Ren et coll., 2018), et nématicides utilisés en médecine vétérinaire (Sakai et coll., 2012 ; Inaoka et coll., 2015). En effet, la résistance aux nématicides a abouti à des résistances, voire des multi-résistances, chez les animaux et donc la recherche de nouveaux principes actifs ciblant le complexe SDH a été entreprise (Inaoka et coll., 2015 ; Myung et Klittich, 2015 ; Mathew et

106. http://agreste.agriculture.sg-ppd.maaf.ate.info/enquetes/pratiques-culturales/a-propos-des-enquetes-pratiques/ [consulté le 2 septembre 2020].
107. Autorisations en vigueur le 10 juin 2020, d'après le site : https://ephy.anses.fr
108. Il s'agit du Velum Prime (https://ephy.anses.fr/ppp/velum-prime) et du Vecalitepi (https://ephy.anses.fr/ppp/vecalitepi) [consulté le 2 septembre 2020].
109. Il s'agit de l'Astrial DG (https://ephy.anses.fr/ppp/astrial-dg), du Varium (https://ephy.anses.fr/ppp/varium), du Stelair (https://ephy.anses.fr/ppp/stelair) et du Racazeliu https://ephy.anses.fr/ppp/racazeliu [consulté le 2 septembre 2020].

coll., 2016). En médecine humaine, un fongicide SDHi (ME1111) pour le traitement de la mycose des ongles a été proposé (Takahata et coll., 2016), ainsi qu'un médicament à activité anti-tumorale (lonidamine) (Nath et coll., 2016) mais sans autorisation de mise sur le marché à ce jour en France.

Tableau 20.II : Principaux types d'usages des fongicides SDHi autorisés en France

Substances actives (SA)	Principaux types de traitement	Cultures	Spécialité contenant la SA autorisée en France	Date de la 1re autorisation en France d'une spécialité contenant la SA
Benzovindiflupyr	Parties aériennes	Céréales, terrains de golf	Oui	22/07/2016
Bixafène	Parties aériennes	Céréales	Oui	15/08/2011
Boscalide	Parties aériennes	Céréales, vigne, arboriculture, crucifères oléagineuses, tournesol, légumes	Oui	14/06/2005
Carboxine	Semences	Céréales	Non	01/12/1968
Fluopyram	Parties aériennes	Céréales, vigne, arboriculture, cultures légumières, oléagineux, banane, terrains de golf	Oui	15/10/2013
Flutolanil	Semences	Pomme de terre	Oui	01/06/1992
Fluxapyroxade	Semences et parties aériennes	Céréales, arboriculture, légumes	Oui	04/10/2011
Isofétamide	Semences et parties aériennes	Vigne, arboriculture, crucifères oléagineuses, pêches, prunes, abricots, cerises, laitues	Oui	10/08/2018
Isopyrazam	Parties aériennes	Plantes ornementales	Oui	18/12/2017
Penflufène	Parties aériennes	Céréales (blé, orge), légumes, riz	Non	–
Penthiopyrade	Parties aériennes	Céréales, tomates, fruits à pépins, concombres, courgettes, aubergines, cucurbitacées	Oui	27/11/2014
Sédaxane	Semences	Céréales et maïs	Oui	01/07/2011

Sources : Anses, 2019 ; *Pesticide Properties DataBase* (https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/ [consulté le 14 mai 2020]) ; rapports Efsa et Echa (*EU Pesticide Database* : https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database [consulté le 14 mai 2020]). Les données correspondent aux règlements en vigueur à la date de consultation des bases de données.

Tableau 20.III : Principaux types d'usages des fongicides SDHi anciennement autorisés en France

Substances actives	Cultures	Dates d'autorisation d'utilisation	Durée d'utilisation
Bénodanil	Cultures ornementales	1983 à 1987	4 ans
Fenfurame	Plaies de taille (cultures fruitières, viticulture), traitement de semences	1983 à 1997	14 ans
Mépronil	Cultures légumières, traitement de sols, traitement de semences	1986 à 2003	17 ans
Oxycarboxine	Cultures ornementales	1973 à 2002	29 ans

Source : Base CIPA (Compilation des Index phytosanitaires ACTA), un outil du programme Matphyto disponible à l'adresse http://matphyto.acta-informatique.fr/ [consulté le 14 mai 2020].

Contamination des milieux et des denrées alimentaires

De par la diversité de leurs usages, les SDHi peuvent être retrouvés comme contaminants dans les denrées alimentaires ainsi que dans différents compartiments environnementaux (air, sols et eaux).

Surveillance dans les différents milieux

Concernant la contamination de l'air ambiant en France, le boscalide est le seul fongicide SDHi parmi 321 substances actives recherchées dans le cadre d'un programme national de mesures des résidus de pesticides dans l'air mené par les Associations agréées de surveillance de la qualité de l'air (AASQA). Les résultats pour la période 2002-2017, obtenus à partir de 6 837 prélèvements effectués sur 176 sites en France métropolitaine et outre-mer, sont compilés dans la base PhytAtmo[110]. Le boscalide, qui n'a été recherché qu'à partir de 2012, a été détecté dans 95 prélèvements sur 2 528, soit un taux de détection de 3,8 % avec une concentration moyenne de 0,087 ng/m^3 (maximum 0,532 ng/m^3). Le boscalide a été recherché sur 50 communes et détecté sur 14 d'entre-elles (28 %).

Une étude récente sur les résidus de pesticides dans les terres agricoles en Europe a montré que le boscalide est détecté dans 27 % des 317 échantillons testés à une concentration médiane de 0,04 mg/kg (maximum 0,41 mg/kg) (Silva et coll., 2019). Une autre étude plus restreinte menée en Allemagne sur des sols sableux a détecté le boscalide, 3 ans après son application, à une concentration moyenne de 0,2 µg/kg (Karlsson et coll., 2016). La demi-vie (DT_{50}) des fongicides SDHi dans les sols varie selon les substances actives,

110. https://atmo-france.org/les-pesticides/ [version du 29 avril 2020 ; consulté le 16 juin 2020].

les types d'études (études de laboratoire ou de terrain), les conditions environnementales (température, humidité) et les types de sol. Dans le rapport Anses de 2019, le groupe d'experts a compilé les données sur les DT_{50} des fongicides SDHi dans les sols à partir des évaluations de risques publiées par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (*European Food Safety Authority* ; Efsa). Ont été rapportées les données obtenues sur l'ensemble des substances actives autorisées au niveau européen en janvier 2019 (à l'exception du penflufène). Les valeurs les plus faibles sont retrouvées pour la carboxine avec une DT_{50} moyenne de 0,28 jours (DT_{50} maximum 11 jours), l'isofétamide avec 37 jours et le sédaxane avec 100 jours. La persistance des autres substances SDHi est plus élevée comme par exemple le benzovindiflupyr, le flutolanil et le bixafène avec des DT_{50} respectivement de 184, 190 et 203 jours. Dans le dernier rapport d'évaluation européenne du boscalide, les DT_{50} rapportées sont de 108 à 384 jours à partir des études de laboratoire (moyenne 232 jours), et de 27 à 208 jours dans les études de terrain (C.E., 2008). Des valeurs du même ordre (entre 182 et 572 jours) ont été rapportées dans des dossiers de l'agence américaine de la protection de l'environnement (EPA, 2010). Enfin, des données sont disponibles pour quelques fongicides SDHi qui font l'objet d'une demande d'autorisation au niveau européen, dont l'inpyrfluxame avec une demi-vie dans les sols de 121 à 1 720 jours (EPA, 2020), l'isoflucyprame avec une demi-vie de 224 à 630 jours dans les études de laboratoire et de 16,5 à 177 jours dans les études de terrain (Echa, 2018), et le pydiflumétofène avec une demi-vie moyenne de 1 334 jours (maximum de 8 540 jours) (Anses, 2019). La quasi-totalité des fongicides SDHi répondent donc aux critères d'une substance dite « persistante » dans les sols selon la réglementation européenne[111] et leur utilisation à long terme peut ainsi conduire à leur accumulation, un phénomène qui a été montré par modélisation pour le boscalide (JMPR, 2009).

Les aquifères sont le réceptacle final de nombre de pesticides, ainsi, en France en 2013, des pesticides ont été détectés dans plus de 90 % des points de suivi des cours d'eau métropolitains par les agences de surveillance de l'eau (Commissariat général au développement durable, 2015). Les molécules les plus fréquemment détectées dans les cours d'eau (eau de surface) sont des herbicides. Parmi les 15 molécules les plus fréquemment détectées en 2013, le boscalide est en 8e position. Il est le seul fongicide de ce top 15. Le taux de détection est inférieur à 20 % en 2012 et 2013. Parmi les 1 580 points de surveillance le concernant, aucun n'a dépassé le seuil d'écotoxicité

111. Une demi-vie dans le sol supérieure à 120 jours. Règlement (CE) n° 1107/2009 du 21/10/09 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives 79/117/CEE et 91/414/CEE.

(11,6 µg/l)[112]. La plupart des autres SDHi n'étant pas recherchés, la présence de ces molécules dans les hydrosystèmes n'est pas connue (Commissariat général au développement durable, 2015).

Surveillance dans les denrées alimentaires (végétales ou animales)

D'après le rapport de l'Anses (2019), les substances SDHi faisant l'objet d'une surveillance dans les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine en France sont : le boscalide, le flutolanil, la carboxine, le bixafène, le fluopyram, le fluxapyroxade, le penthiopyrade et le benzovindiflupyr. Les résultats des programmes de surveillance et de contrôles mis en œuvre par les ministères de l'Agriculture et de la Consommation entre 2013 et 2016 montrent que le boscalide est quantifié[113] dans 4,4 % à 8,7 % des échantillons de denrées prélevées à la distribution et dans 9,2 % à 12,7 % de denrées directement à la production. Concernant le flutolanil, le taux de quantification est de 0,02 % pour les denrées distribuées, et de 0,7 % pour les denrées à la production. Un seul dépassement de la limite maximale de résidus (LMR) est constaté sur un échantillon de carotte issu des denrées prélevées à la distribution. La carboxine n'a pas été quantifiée dans les denrées prélevées à la distribution et l'a été une seule fois sur les denrées à la production (sur 800 à 1 400 analyses annuelles) sans dépasser la LMR. Concernant les autres substances, le bixafène et le fluopyram sont quantifiés dans moins de 2,5 % des échantillons (sans dépassement de la LMR sauf pour un cas pour des kiwis et le fluopyram), le fluxapyroxade, le penthiopyrade et le benzovindiflupyr ne sont pas quantifiés.

Le boscalide a été mesuré dans des études de l'alimentation totale française menées par l'Anses dont l'EAT2 réalisée entre 2006 et 2011, et aussi plus récemment avec la carboxine, le flutolanil et le mépronil dans l'EATi, réalisée entre 2010 et 2016 et qui portait sur l'alimentation infantile. Dans l'EAT2, le boscalide a été quantifié dans 20 % des échantillons de fruits (n = 75) à des concentrations comprises entre 0,01 et 0,09 mg/kg et dans 1,5 % des échantillons de légumes (n = 263) à des concentrations comprises entre 0,03 et 0,250 mg/kg, sans aucun dépassement de la LMR (Nougadère et coll., 2012). Dans l'EATi, le boscalide a été quantifié dans 5 sur 305 des produits analysés (1,6 %) à des taux faibles, de l'ordre de 0,001 mg/kg, alors

112. Valeur guide environnementale (VGE) pour les eaux douces non destinées à la production d'eau potable. L'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) indique pour le boscalide une VGE de 11,6 µg/l (moyenne annuelle)
https://substances.ineris.fr/fr/substance/cas/188425-85-6/3 [consulté le 24 juin 2020].

113. Concentration égale ou supérieure aux taux de quantification équivalent habituellement à 3 fois le taux de détection.

que la carboxine, le flutolanil et le mépronil n'ont pas été quantifiés (Nougadère et coll., 2020).

Au niveau européen, l'Efsa compile les données des programmes de contrôle nationaux menés par les États membres de l'UE, l'Islande et la Norvège. Concernant les données de 2018 (Efsa, 2020), 16 substances actives SDHi ont été étudiées (tableau 20.IV) : le boscalide et le fluopyram sont quantifiés dans respectivement 8,96 % et 6,75 % des échantillons analysés, un groupe de 7 substances sont quantifiées dans moins de 0,5 % des échantillons (le benzovindiflupyr, le bixafène, la carboxine, le flutolanil, le fluxapyroxade, l'isopyrazam et le penthiopyrade) et 7 substances ne sont quantifiées dans aucun des échantillons (le bénodanil, le fenfurame, l'isofétamide, le mépronil, l'oxycarboxine, le penflufène et le sédaxane). Seul le boscalide dépasse sur certains échantillons la LMR : sur 75 008 échantillons analysés pour cette substance, 61 (0,08 %) dépassent la LMR (8 sont des produits d'origine européenne, 53 d'origine extra-européenne).

Tableau 20.IV : Analyse des niveaux de résidus de pesticides SDHi dans les aliments sur le marché européen : nombre d'échantillons analysés et nombre de quantifications

Substance active	Nombre d'échantillons analysés	Nombre de quantifications (> LQ)	% de quantification	Nombre de pays concernés
Bénodanil	9 689	0	0	7
Benzovindiflupyr	11 841	1	0,01	10
Bixafène	40 458	11	0,03	26
Boscalide	75 008	6 720	8,96	30
Carboxine	52 926	1	0	27
Fenfurame	6 713	0	0	4
Fluopyram	61 161	4 131	6,75	30
Flutolanil	61 478	18	0,03	28
Fluxapyroxade	45 507	208	0,46	26
Isofétamide	1 409	0	0	1
Isopyrazam	32 079	3	0,01	17
Mépronil	37 440	0	0	21
Oxycarboxine	14 049	0	0	14
Penflufène	21 455	0	0	19
Penthiopyrade	33 021	23	0,07	20
Sédaxane	5 035	0	0	6

LQ : Limite de quantification. Source : Efsa, 2020

L'Efsa a également évalué les risques liés à l'exposition alimentaire chronique en prenant en compte la concentration moyenne mesurée de pesticides dans les différents aliments, la consommation journalière moyenne de ces produits par habitant et la dose journalière admissible de la substance (DJA). Ces calculs ont été réalisés pour 182 pesticides (ou types de pesticides) dont 2 substances SDHi. L'exposition chronique au boscalide est estimée entre 1,6 % et 2,5 % de la DJA (selon un scénario minorant ou majorant) et l'exposition au fluopyram est estimée entre 0,91 % et 4 % de la DJA (selon les mêmes scénarios).

Enfin, une étude académique a examiné les résidus de plusieurs fongicides dont le boscalide dans les vins de différents pays. Le boscalide a été retrouvé dans 19,2 % de 250 vins testés à une concentration maximale de 0,136 mg/l (moyenne 0,03 mg/l) (Esteve-Turrillas et coll., 2016).

Biosurveillance humaine et sources d'exposition

L'Anses indique qu'il n'existe pas de données de biosurveillance humaine pour les SDHi, ces molécules n'ayant notamment pas été identifiées comme prioritaires lors de l'établissement de la liste des substances à inclure dans le programme national de biosurveillance (Anses, 2019).

Dans une étude académique analysant un échantillon de 311 femmes de la cohorte ELFE recrutées en maternité en 2011 en France métropolitaine, le boscalide a été détecté dans les cheveux de 195 femmes (63 %) avec une concentration médiane de 0,55 pg/mg de cheveux (Béranger et coll., 2018 ; Béranger et coll., 2020). Parmi un échantillon de 16 individus participant à une étude interventionnelle portant sur l'impact de l'alimentation d'origine biologique sur l'imprégnation urinaire aux États-Unis, aucune mesure réalisée avant et après l'intervention ne rapportait la présence du boscalide dans les urines (Hyland et coll., 2019).

Dans une d'étude académique préliminaire, chez les fleuristes en Belgique sur un faible effectif (n = 14), le boscalide a été détecté dans les urines à des concentrations comprises entre 0,49 et 0,82 µg/l (Toumi et coll., 2020). D'autres auteurs ont évalué, par modélisation, l'exposition à la carboxine par voie cutanée et par inhalation chez les personnes travaillant en floriculture sous serres en Colombie (Lesmes-Fabian et Binder, 2013) ou, dans une étude menée aux États-Unis, chez des personnes traitant les semences (Grey et coll., 1983).

Toxicocinétique

Les processus d'absorption, de distribution, de métabolisation et d'excrétion (ADME) des SDHi sont décrits dans les fiches techniques produites par les firmes pour les demandes de mise sur le marché et publiées par l'Anses, l'Echa et l'Efsa. Elles sont principalement obtenues chez le rat après une exposition par voie orale.

Ces études résumées dans le rapport de l'Anses en 2019, décrivent une absorption orale rapide et importante (> 80 %) pour la plupart des substances actives (benzovindiflupyr, bixafène, carboxine, fluopyram, isofétamide, penflufène, penthiopyrade, sédaxane, pydiflumétofène). Il est observé une large distribution dans le foie et le rein (benzovindiflupyr, bixafène, sédaxane, pydiflumétofène), ainsi que dans d'autres organes, glandes et tissus : tissus adipeux, thyroïde (boscalide) ; érythrocytes, surrénales, thyroïde et ovaires (fluopyram) ; surrénales (isopyrazam) ; érythrocytes, surrénales et tissus adipeux (penflufène). Le fluxapyroxade se retrouve dans le foie, tissu adipeux et surrénales.

Ces études montrent une absence d'accumulation et une excrétion rapide (benzovindiflupyr, bixafène, boscalide, carboxine, flutolanil, penflufène, sédaxane, pydiflumétofène), qui pour certaines substances est complète après 24 à 72 h (fluxapyroxade, isofétamide, isopyrazam, penthiopyrade) ou à une semaine (fluopyram). L'élimination est principalement par voie biliaire et/ou urinaire.

Elles indiquent que les SDHi sont métabolisés par :

- déméthylation, hydroxylation et glucurono-, sulfo-conjugaison : benzovindiflupyr ;
- déméthylation, hydroxylation et conjugaison (acide glucuronique et glutathion) et minoritairement par clivage de la fonction amide : bixafène ;
- hydroxylation du noyau biphényle et glucurono-, sulfo- et glutathion-conjugaison : boscalide ;
- déméthylation, hydroxylation, oxydation puis glucurono-, sulfo- et glutathion-conjugaison : sédaxane ;
- clivage de la molécule conduisant d'une part au métabolite majeur trichlorophénol et d'autre part à des métabolites pyrazolés. Autres voies : déméthylation, hydroxylation, oxydation puis conjugaison : pydiflumétofène ;
- N-déméthylation et hydroxylation de la chaîne alkyle suivie par une oxydation en acides carboxyliques et glucurono-conjugaison, oxydation du cycle thiényle et glutathion-conjugaison : penthiopyrade ;

• oxydation, hydroxylation, clivage de la fonction amide et glucurono-conjugaison : carboxine, fluopyram ;

• hydroxylation du noyau biphényle, perte d'un atome de fluor, N-déméthylation, conjugaison et clivage minoritaire de la fonction amide : flutolanil, fluxapyroxade ;

• hydroxylation du groupement bicycle-isopropyle, oxydation, N-déméthylation et conjugaison : isopyrazam ;

• hydroxylation, N-déméthylation, oxydation puis conjugaison : penflufène ;

• O-désalkylation, oxydation, hydroxylation puis conjugaison : isofétamide.

Conséquences biologiques d'une altération de la fonction de la succinate déshydrogénase

Une mutation d'une ou plusieurs sous-unités de la SDH engendre une perte de fonction en condition de normoxie avec pour conséquence primaire une accumulation de succinate dans la mitochondrie, susceptible d'entraîner une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (*Reactive Oxygen Species*, ROS). À la suite de son accumulation intra-mitochondriale, le succinate peut migrer dans le compartiment cytosolique en utilisant un transporteur membranaire VDCA (*Voltage-Dependent Anion-Selective Channel Protein 1*, ou pore anionique voltage-dépendant) et induire la mise en place d'un phénotype de pseudo-hypoxie par inhibition des enzymes permettant la dégradation de HIF-1α, le facteur de transcription régulant la réponse à cette hypoxie (voir ci-dessous). De plus, l'excès de succinate induit des modifications épigénétiques avec pour conséquence la dérégulation de l'expression de centaines de gènes, notamment certains de ceux impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse.

Succinate et production d'espèces réactives de l'oxygène

Bien que les complexes I et III de la chaîne respiratoire soient des sites majeurs de production de ROS, le complexe II peut également y participer suite au blocage de son activité. Ainsi lorsque le complexe II est perturbé au niveau des sous-unités de la SDH (voir aussi ci-dessous), l'oxydation du succinate et le transfert d'électrons au groupement flavine de la SDHA pourraient se produire normalement, tandis que le transfert ultérieur des électrons vers les centres fer-soufre de la SDHB et l'ubiquinone est altéré, favorisant la production de superoxyde par l'auto-oxydation du groupement flavine réduit par l'oxygène dans la matrice (Rustin et Rötig, 2002). La production

de ROS par ciblage du complexe II par des agents chimio-thérapeutiques serait dépendante des modifications du pH intracellulaire et mitochondrial matriciel, et entraînerait la mort cellulaire par apoptose (Lemarie et coll., 2011). Le stress oxydant peut être associé à des syndromes neurodégénératifs, comme la maladie de Parkinson, d'Alzheimer ou de Huntington (Ebadi et coll., 2001 ; Lin et Beal, 2006 ; Niedzielska et coll., 2016 ; Trist et coll., 2019). Il peut aussi faciliter la promotion et la progression tumorale (Liou et Storz, 2010) en altérant la signalisation cellulaire et en causant des dommages oxydatifs à l'ADN (Tamura et coll., 2014 ; Galadari et coll., 2017 ; Prasad et coll., 2017).

Des études fonctionnelles dans des modèles de levure présentant des délétions ou des mutations ponctuelles dans les orthologues des gènes *SDHA*, *SDHB*, *SDHC* et *SDHD* humains ont pu démontrer que l'inactivation de la SDH est associée à une augmentation de la production de ROS qui s'accompagne d'une instabilité génomique (Smith et coll., 2007 ; Szeto et coll., 2007 ; Goffrini et coll., 2009). D'autres études suggèrent que des mutations dans les sous-unités B, C et D pourraient également influencer la production d'anion superoxyde au niveau du site de liaison de l'ubiquinone sur la SDHD (Guo et Lemire, 2003 ; Szeto et coll., 2007). Plus récemment, il a été montré que l'inactivation de la SDHC dans des cellules humaines d'hépatocarcinome conduit à une augmentation de la production de ROS (Li et coll., 2019). De manière similaire, dans des lignées cellulaires humaines d'hépatome Hep3B, de carcinome pulmonaire A549 et d'ostéosarcome dans lesquelles la SDHB a été inactivée par ARN interférence ou « pharmacologiquement » (par traitement avec le TTFA), on observe un stress oxydant associé à la stabilisation nucléaire du facteur de transcription HIF-α (*Hypoxia Inducible Factor alpha*) en conditions normoxiques (Guzy et coll., 2008). Dans des cellules de hamster exprimant une version normale ou une version mutée du gène *SDHC* humain, il se produit une augmentation des niveaux d'anion superoxyde et de peroxyde d'hydrogène qui s'accompagne d'une activation de la superoxyde dismutase et du métabolisme du glutathion, cohérente avec la mise en place des mécanismes de défense contre le stress oxydant. Ce phénomène est associé à un stress métabolique caractérisé par une augmentation de la consommation de glucose. L'ensemble de ces désordres sont prévenus par une réexpression du gène *SDHC* (Slane et coll., 2006). Enfin, l'inhibition de la SDH par l'atpenin A5, un inhibiteur pharmacologique du complexe II de la chaîne respiratoire, doté de propriétés antifongiques et nématicides (Selby et coll., 2010 ; Lee et coll., 2019), induit également un stress oxydant dans les cellules tumorales coliques humaines HT29 et DLD-1 mais pas dans des fibroblastes normaux (Paranagama et Kita, 2017). La production de ROS résultant d'un déficit en SDH peut également favoriser la

transduction d'un signal de stabilisation du facteur de transcription d'HIF-1α en oxydant le Fe^{2+} en Fe^{3+}, car le Fe^{2+} est un cofacteur critique des prolyl-hydroxylases responsables de l'hydroxylation d'HIF1 (Zhao et coll., 2017).

Succinate, HIF1 et pseudo-hypoxie

L'une des conséquences de l'accumulation de succinate dans le cytosol est l'inhibition de l'activité des HIF prolyl-hydroxylases (PHD) qui contrôlent la stabilité de HIF-1α et donc le devenir du facteur de transcription HIF1 responsable de la réponse à l'hypoxie (Selak et coll., 2005). La fonction physiologique d'HIF1 est de favoriser l'adaptation des cellules à la fluctuation du niveau de dioxygène (O_2). En situation de normoxie, le complexe HIF1 est maintenu à un faible niveau grâce à sa dégradation régulière par le protéasome, après son hydroxylation par les PHD dont l'activité est dépendante du dioxygène.

Au cours de la tumorigenèse, l'accroissement du volume tumoral entraîne une hypoxie transitoire au centre de la tumeur, qui favorise la stabilisation d'HIF1 (dimère de HIF1α et HIF1β). Ce facteur de transcription sensible à l'hypoxie va alors stimuler l'expression des gènes impliqués dans la néovascularisation comme le *VEGF* (Bernaudin et coll., 2002) ou dans le transport du glucose et la glycolyse (Vander Heiden et coll., 2009) et favoriser une reprogrammation métabolique propice à la promotion et à la progression tumorale. Ce remodelage métabolique, connu sous le nom d'effet Warburg, constitue un marqueur du phénotype tumoral commun à la plupart des cellules cancéreuses. Il favorise la glycolyse aux dépens de l'activité du cycle de Krebs couplé à la chaîne respiratoire des mitochondries, pour fournir les métabolites nécessaires à une prolifération rapide des cellules cancéreuses, ainsi que les cofacteurs nécessaires à leur lutte contre le stress oxydant (Vander Heiden et coll., 2009). Le succinate est un inhibiteur compétitif des PHD (Xiao et coll., 2012 ; Her et coll., 2015 ; Peters et coll., 2015). En bloquant l'hydroxylation d'HIF1 par les PHD, une élévation du succinate pourrait induire la stabilisation de ce facteur de transcription même dans des conditions de normoxie, avec des conséquences sur le développement du phénotype tumoral.

Dans des tumeurs de type PGL et PCC présentant une augmentation du niveau de succinate liée à une inactivation complète de l'un des gènes SDH, il a été mis en évidence une surexpression d'HIF1 (Pollard et coll., 2005 ; Gimenez-Roqueplo, 2006), liée à une inhibition de l'activité des PHD par le succinate. C'est également le cas dans des cellules transfectées avec un siARN dirigé contre *SDHB* (cellules hépatiques Hep3b et cellules d'adénocarcinome

gastrique AGS) (Cervera et coll., 2009) et dans des fibroblastes de patients présentant une inactivation complète du gène *SDHA* (Brière et coll., 2005). HIF1 concourt à l'activation de processus favorables à la cancérogenèse, notamment par la promotion d'une reprogrammation métabolique propice à la prolifération cellulaire. Ces caractéristiques ont conduit à considérer que l'inactivation des gènes *SDHx* entraîne la mise en place d'un phénotype de pseudo-hypoxie et à qualifier ces gènes de suppresseurs de tumeur. On peut également noter que l'accumulation de succinate observée dans des macrophages humains THP1 en réponse à une exposition à l'inhibiteur pharmacologique du complexe II atpenin A5 est également associée à une augmentation du niveau d'HIF-1α (Fuhrmann et coll., 2019).

Succinate et régulation épigénétique

Le succinate, comme le fumarate et le 2-hydroxyglutarate, appartient à la famille des « oncométabolites ». Une augmentation de leur concentration cellulaire entraîne une dérégulation de l'homéostasie métabolique au sein du cycle de Krebs qui favorise la reprogrammation métabolique propice à la cancérogenèse évoquée plus haut (Nowicki et Gottlieb, 2015).

Le succinate joue un rôle crucial dans les régulations épigénétiques, en particulier en inhibant l'activité de déméthylases de l'ADN (figure 20.3). La méthylation de l'ADN est une modification chimique qui affecte les bases C au sein de dinucléotides CpG. Cette modification épigénétique, lorsqu'elle affecte les régions promotrices des gènes, permet de contrôler l'activité des gènes dans différents tissus et en réponse à différents stimuli nutritionnels, hormonaux ou environnementaux, sans modifier la séquence primaire d'ADN. La méthylation de l'ADN affecte la structure de la chromatine et est fréquemment associée à une répression des gènes. Elle peut être réversée par des enzymes possédant une activité déméthylase de la famille TET (*ten-eleven-translocation*) qui catalysent l'oxydation des 5-méthyl-cytosines en 5-hydroxy-méthyl-cytosine. Ce signal moléculaire de déméthylation est alors associé à une activation de la transcription des gènes (Vasanthakumar et Godley, 2015). Le succinate est un inhibiteur des déméthylases de la famille TET, avec une concentration inhibitrice médiane (IC_{50}) de l'ordre de 550 µM (Laukka et coll., 2016), une valeur compatible avec le niveau de succinate dans les tumeurs SDHx qui peut atteindre plusieurs millimolaires (Pollard et coll., 2005 ; Xiao et coll., 2012). Son accumulation est donc susceptible de modifier la méthylation de l'ADN et il est connu que les altérations du profil de méthylation des gènes sont souvent impliquées dans le processus de cancérogenèse.

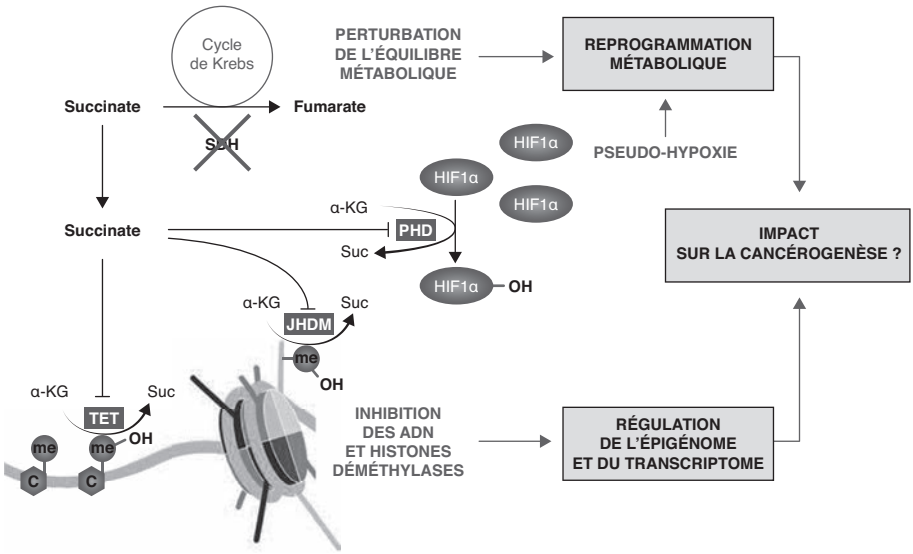


Figure 20.3 : Conséquences potentielles d'une accumulation de succinate sur la reprogrammation métabolique et la régulation de l'épigénome

L'accumulation de succinate pourrait entraîner une dérégulation de l'homéostasie métabolique, une inhibition des PHD (prolyl hydroxylases) responsables de la stabilisation d'HIF1 et de la mise en place d'une pseudo-hypoxie, et l'inhibition d'histones et d'ADN déméthylases responsables de la régulation de l'épigénome et par conséquent, du transcriptome. L'ensemble de ces évènements moléculaires pourrait avoir un impact sur la cancérogenèse.

Dans les tumeurs PGL et PCC associées aux mutations des gènes *SDHx*, un phénotype hyperméthylé de l'ADN au niveau du génome entier a été observé, affectant les promoteurs de plus de 4 000 gènes. Ces altérations du méthylome ont des conséquences importantes sur le répertoire transcriptionnel des tumeurs, avec la diminution du niveau d'expression d'environ 200 gènes hyperméthylés. Parmi ces gènes, ont été identifiés des gènes suppresseurs de tumeurs ou encore des gènes associés à la transition épithélio-mésenchymateuse, un processus crucial qui permet aux cellules cancéreuses de quitter leur tissu d'origine et de migrer vers d'autres organes pour former des métastases. L'extinction de ces gènes en réponse à l'hyperméthylation de leurs régions promotrices pourrait expliquer, au moins en partie, la dédifférenciation des cellules chromaffines au sein des PGL et PCC et le caractère invasif des tumeurs associées à une mutation du gène *SDHB* (Letouzé et coll., 2013). En accord avec cette hypothèse, l'inactivation génétique de *SDHB* dans des cellules chromaffines de souris entraîne une accumulation de succinate qui agit comme un inhibiteur compétitif des déméthylases de la famille TET, conduisant à une accumulation progressive de cytosines méthylées. Le phénotype hyperméthylé qui en résulte reproduit celui observé dans les tumeurs humaines portant une mutation *SDHB* à l'état homozygote et est

associé à des capacités migratoires augmentées des cellules chromaffines ainsi modifiées (Letouzé et coll., 2013).

Le succinate est aussi un inhibiteur compétitif des histones déméthylases dépendantes de l'α-cétoglutarate avec un IC_{50} de l'ordre de 0,8 mM (Xiao et coll., 2012). L'accumulation de succinate est donc également associée à une augmentation de la méthylation des histones (figure 20.3). Les histones sont les protéines formant les nucléosomes de la chromatine. Elles subissent des modifications post-traductionnelles qui modulent l'accessibilité de l'ADN, donc des gènes, à la machinerie transcriptionnelle. C'est principalement l'extrémité N-terminale de la chaîne polypeptidique des histones qui émerge des nucléosomes, qui subit ces nombreuses modifications post-traductionnelles. La nature de ces modifications est diverse incluant notamment la phosphorylation, l'acétylation, l'ubiquitinylation et la méthylation. Concernant ce dernier type de modulation, les histones peuvent être mono-, di-, ou triméthylés. La méthylation des lysines 9 et 27 de l'histone H3 (H3K9 et H3K27, respectivement) est associée à une répression de la transcription.

Dans les tumeurs impliquant une inactivation de la SDH, plusieurs travaux ont montré que l'accumulation de succinate modifie l'épigénome via une hyperméthylation des histones. Ainsi, dans les tumeurs humaines associées à une inactivation du gène *SDHB*, les cellules chromaffines de souris et les cellules tumorales ovariennes de souris dans lesquelles le gène *Sdhb* a été inactivé, une augmentation du niveau de méthylation des histones H3K9 triméthylés et H3K27 di- et triméthylés a été mise en évidence (Letouzé et coll., 2013 ; Aspuria et coll., 2014). Dans les cellules embryonnaires rénales humaines HEK293T, l'inactivation de *SDHA* ou *SDHB* par ARN interférence (utilisation de siARN) entraîne une augmentation du niveau des histones H3K4 mono-, di- et triméthylés, et H3K79 diméthylés. Cette hyperméthylation des histones est retrouvée dans les cellules humaines d'hépatocarcinome Hep3B, de fibrosarcome HT1080 et de phéochromocytome de rat PC12 suite à une inhibition de la SDH par un traitement avec 0,5 mM de TTFA pendant 24 h (Cervera et coll., 2009), avec des profils d'hyperméthylation de l'histone H3 différents selon les lignées cellulaires utilisées.

Bien que les données sur l'inactivation partielle ou totale de la SDH par mutations génétiques soient plus étayées que celles sur l'inhibition chimique, il est important de noter que les inhibiteurs pharmacologiques de la SDH (notamment le TTFA, l'atpenin) ou la présence de succinate (notamment sous forme de diméthyl-succinate) entraînent, dans le contexte particulier d'expérimentations sur des modèles cellulaires, des effets similaires à ceux décrits dans le cas des altérations génétiques de la

SDH. En effet, ces molécules sont capables d'induire *in vitro* une pseudo-hypoxie par changement de l'activité de la PHD ainsi qu'un stress oxydant, une hyperméthylation des îlots CpG et une hyperméthylation des histones (Guzy et coll., 2008 ; Cervera et coll., 2009 ; Lemarie et coll., 2011 ; Wentzel et coll., 2017).

Succinate, SDH et transition épithélio-mésenchymateuse

La plupart des décès imputables aux tumeurs malignes solides (90 %) sont liés à l'apparition et la croissance de métastases disséminées responsables de dysfonctions d'organes vitaux. D'un point de vue mécanistique, la capacité d'une tumeur primaire à former des métastases requiert plusieurs étapes, incluant la capacité de dégrader la matrice extracellulaire, de migrer dans le flux sanguin, de s'ancrer puis de proliférer dans un tissu différent.

La transition épithélio-mésenchymateuse (*Epithelial-Mesenchymal Transition* ; EMT) constitue l'une des premières étapes nécessaires au processus métastatique. Ce phénomène dynamique et réversible repose sur des modifications morphologiques et fonctionnelles complexes de la cellule tumorale, nécessaires à l'acquisition d'un phénotype invasif (figure 20.4). L'EMT se caractérise par la perte des propriétés de polarité et d'adhérence caractéristiques des cellules épithéliales, et l'acquisition de propriétés de mobilité et d'invasion propres aux cellules mésenchymateuses (Thiery et coll., 2009).

Ce processus est caractérisé par de profonds changements transcriptionnels (Lamouille et coll., 2014) et épigénétiques (McDonald et coll., 2011 ; Tam et Weinberg, 2013), liés à un remodelage métabolique affectant le métabolisme du glucose, des lipides, de la glutamine et des nucléotides (Sciacovelli et Frezza, 2017). La connexion étroite entre l'EMT et le métabolisme mitochondrial a notamment été établie par la démonstration d'une signature moléculaire caractéristique de l'EMT dans des tumeurs porteuses de mutations dans des gènes codant des enzymes du cycle de Krebs, dont la SDH (Loriot et coll., 2012). Certains travaux mettent également en évidence que l'EMT peut être impliquée dans l'émergence de propriétés caractéristiques des cellules souches cancéreuses (Puisieux et coll., 2014 ; Ye et Weinberg, 2015), incluant la chimiorésistance avec une surexpression de gènes codant des pompes d'efflux de médicaments (Du et Shim, 2016), et la dormance tumorale (Giancotti, 2013).

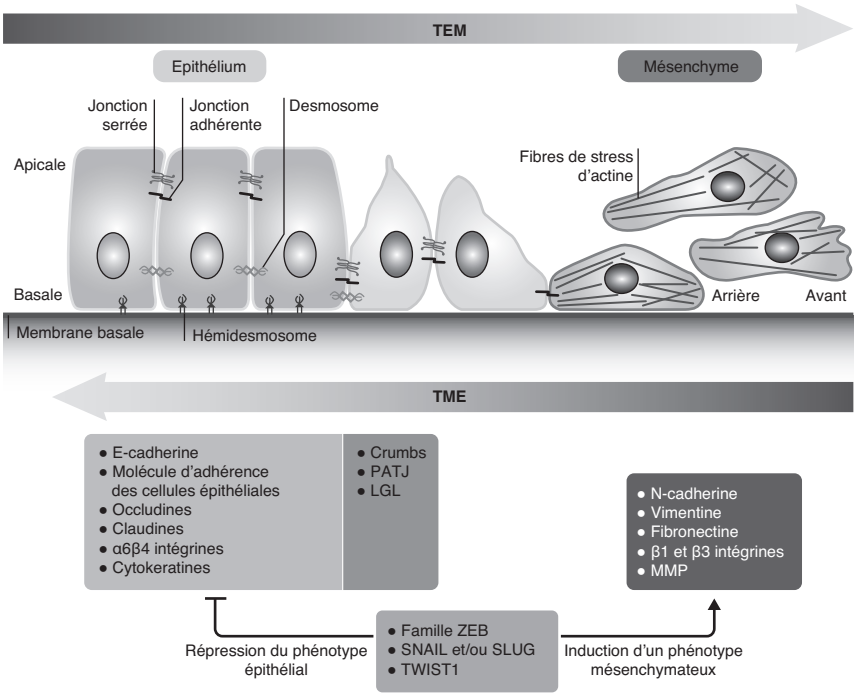


Figure 20.4 : Représentation schématique des modifications cellulaires intervenant lors de la mise en place de la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) (d'après Dongre et Weinberg, 2019)

Les cellules épithéliales présentent une polarité « baso-apicale » et sont maintenues entre elles par des jonctions serrées, des jonctions adhérentes et des desmosomes. Elles sont liées à la membrane basale par des hémidesmosomes. Ces cellules expriment des molécules caractéristiques de l'état épithélial impliquées dans le maintien de la polarité cellulaire. L'induction de la EMT (transition épithélio-mésenchymateuse) conduit à l'expression des facteurs de transcription ZEB, SNAIL et TWIST, qui inhibent l'expression des gènes associés à l'état épithélial et activent simultanément l'expression des gènes associés à l'état mésenchymateux. Ces changements entraînent le désassemblage des jonctions intercellulaires et la disparition de la polarité. La perte progressive des caractéristiques épithéliales s'accompagne de l'acquisition d'un ensemble de caractéristiques mésenchymateuses avec une polarité « avant-arrière », un cytosquelette largement réorganisé et des marqueurs mésenchymateux.
TME : transition mésenchymo-épithéliale.
(Figure traduite de l'anglais)

Loriot et coll. ont montré que les PCC et les PGL métastatiques humains porteurs de mutations du gène *SDHB* sont invasifs et présentent une activation des facteurs de transcription Snail 1 et Snail 2 qui gouvernent la mise en place de l'EMT suggérant l'induction d'une EMT dans ces tumeurs (Loriot et coll., 2012). Confirmant cette hypothèse, l'inactivation du gène *SDHB* dans les cellules chromaffines de souris induit l'expression de ces facteurs de transcription et conduit à une augmentation des capacités migratoires, partiellement bloquée par la décitabine, un inhibiteur de la méthylation de l'ADN (Letouzé et coll., 2013 ; Loriot et coll., 2015). Le lien entre le déficit en SDHB et l'EMT a également été démontré dans le cancer colorectal, où l'inactivation

du gène *SDHB* favorise la migration et l'invasion cellulaires *via* un mécanisme impliquant le TGF-β et le facteur de transcription Snail1 (Wang et coll., 2016), ainsi que dans le cancer ovarien (Aspuria et coll., 2014).

Une autre observation est que les gènes *SDHA* et *SDHB* sont fréquemment sous-exprimés dans les carcinomes hépatocellulaires humains (Shimizu et coll., 2014). Chez les patients présentant des tumeurs hépatocellulaires, cette atténuation de l'expression de la SDH est associée à la progression tumorale et à une diminution de la survie des patients (Li et coll., 2019). Dans des cellules d'hépatocarcinome, l'inactivation du gène *SDHC* induit une augmentation du niveau de succinate et favorise la prolifération cellulaire et la mise en place d'une EMT, avec la diminution des marqueurs épithéliaux (E-cadhérine et zonula occludens-1) et une augmentation des marqueurs mésenchymateux (vimentine et N-cadhérine). Ces observations s'accompagnent d'une augmentation des capacités de migration et d'invasion des cellules tumorales (Li et coll., 2019). De manière similaire, l'inactivation du gène *SDHB* dans les cellules d'hépatocarcinome Hep3B induit une EMT caractérisée par une diminution du marqueur épithélial E-cadhérine et une augmentation des marqueurs mésenchymateux N-cadhérine, vimentine et des facteurs de transcription contrôlant l'EMT (Twist, Slug et Snail). La mise en place de cette EMT s'accompagne d'une augmentation des capacités de prolifération et de migration des cellules tumorales (Tseng et coll., 2018).

Bien que l'ensemble de ces études ne se soient pas spécifiquement axées sur l'accumulation de succinate comme médiateur de l'EMT, il a été récemment montré que le succinate, tout comme le fumarate, peut induire la suppression épigénétique de miARN de la famille miR-200 et leur induction ultérieure dans les cellules rénales épithéliales déficientes en SDHB (Sciacovelli et coll., 2016).

Données toxicologiques concernant les fongicides SDHi

Les contaminants environnementaux sont susceptibles de nuire à la santé humaine et à la biodiversité *via* divers mécanismes (par exemple *via* des effets génotoxiques, mutagéniques ou perturbateurs endocriniens). Les études épidémiologiques ont permis d'associer l'exposition à des polluants environnementaux à la survenue ou la progression de certaines pathologies mais les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués restent en grande partie inconnus.

Ces dernières années, il est apparu que l'exposition à des contaminants environnementaux incluant certains pesticides pouvait favoriser un dysfonctionnement mitochondrial. C'est le cas pour le paraquat (Tawara et coll.,

1996 ; Cochemé et Murphy, 2008), le manèbe (Zhang et coll., 2003 ; Domico et coll., 2006), et la roténone (Betarbet et coll., 2000 ; Navarro et coll., 2010) qui perturbent la respiration cellulaire en bloquant l'activité des complexes I et/ou III de la chaîne respiratoire des mitochondries et sont suspectés de jouer un rôle dans le développement de la maladie de Parkinson (Costello et coll., 2009 ; Tanner et coll., 2011 ; Wang et coll., 2011).

Malgré une littérature académique croissante portant sur les SDHi, les données publiées concernent essentiellement leur écotoxicité. Des données de toxicité sont essentiellement retrouvées dans les dossiers d'autorisation de mise sur le marché des substances actives communiqués par les firmes qui les commercialisent, mais ces rapports ne passent pas par une procédure d'évaluation indépendante par les pairs. Comme c'est souvent aussi le cas pour les études académiques, elles ne permettent pas d'accéder aux données brutes (c'est-à-dire les résultats primaires qui n'ont été soumis à aucun traitement ou transformation).

Une analyse de la littérature académique portant sur la toxicologie des SDHi implique la prise en considération des résultats obtenus à partir de diverses approches expérimentales (*in vitro* ou *in vivo*) et différents organismes modèles. Afin de mieux comprendre comment les SDHi interagissent avec le complexe II mitochondrial pour perturber son fonctionnement dans les différents organismes, les analyses moléculaires et structurales sont brièvement décrites ci-dessous. Ensuite, les études d'inhibition *in vitro* de l'activité SDH, puis les études de toxicité et de cancérogénicité sur les modèles animaux (rongeurs et poissons) sont analysées.

Inhibition de la succinate déshydrogénase : analyses structurales (*in silico*) et fonctionnelles (*in vitro*)

Structure protéique de la SDH et site de fixation des SDHi

L'analyse des séquences nucléotidiques des sous-unités de la SDH montre une identité/similarité très importante entre les espèces (champignons, levure, l'être humain), notamment pour SDHA et B et plus faible pour SDHC et D (Huang et Millar, 2013). Non seulement les séquences mais aussi les structures déterminées par cristallographie aux rayons X sont semblables et, en premier lieu, le site de liaison de l'ubiquinone et des fongicides SDHi (Q-site). L'étude de mutations spontanées ou induites (ciblées ou non) apporte des informations sur l'activité du complexe II mitochondrial. Le site de liaison du succinate est localisé dans la sous-unité SDHA et le Q-site implique des acides aminés des sous-unités SDHB, SDHC et SDHD (Cecchini, 2003 ; Lalève et coll., 2014).

Récemment, une analyse d'identité/similarité des séquences SDHx a été réalisée dans une étude expérimentale *in vitro* qui avait pour objectif d'explorer les effets potentiels des SDHi chez les espèces non-cibles. L'analyse bio-informatique des séquences d'acides aminés des sous-unités SDHB, SDHC et SDHD de 22 espèces a abouti à la même conclusion quant à un fort degré de conservation. Douze acides aminés sont importants pour la fixation des SDHi (figure 20.5), 5 d'entre eux sont identiques entre les espèces comparées alors que les autres sont différents mais les changements sont conservatifs (Bénit et coll., 2019).

L'identification de mutations qui confèrent un phénotype de résistance de champignons parasites aux fongicides SDHi, des approches par mutagenèse ciblée pour identifier les sites de liaison des SDHi ainsi que des données de cristallographie aux rayons X apportent des éléments pour déterminer la structure du complexe seul ou associé à un inhibiteur d'activité.

Parmi les mutations responsables d'un phénotype de résistance au boscalide, il est très souvent identifié chez *Botrytis cinerea* les mutations du gène *Sdhb* touchant les acides aminés Pro225 et His272 (Yin et coll., 2011) (dénommées ci-après SdhB-Pro225 et SdhB-His272 ; locus et acides aminés correspondant chez l'être humain ou le porc à respectivement SDHB-Pro197 et SDHB-His249). Une trentaine de mutations ont été identifiées comme responsables de la résistance aux fongicides et les plus fréquentes chez *B. cinerea* sont, comme précédemment, SdhB-Pro225 et SdhB-His272 avec de plus SdhB-Asn230 (Sierotzki et Scalliet, 2013), locus et acide aminé de ce dernier correspondant chez l'être humain (ou le porc) à SDHB-Asn202. Ces mutations sont pour partie dans la région du Q-site identifié en radiocristallographie (Yankovskaya et coll., 2003 ; Sun et coll., 2005). Il est intéressant de noter que des mutations de l'acide aminé SdhB-Pro225 chez *B. cinerea* (correspondant à SDHB-Pro197 chez l'être humain), conduisant à une résistance aux SDHi ont été retrouvées chez des patientes atteintes de PCC/PGL (Andrews et coll., 2018).

La structure cristallographique du complexe II de mitochondries de cœur de porc a été résolue ainsi que le complexe en présence du TTFA, un inhibiteur classique de la réduction de l'ubiquinone qui se loge dans le Q-site (Sun et coll., 2005). Le Q-site est formé par l'hélice 2L (SDHC ; aa 38-52), l'hélice 2S (SDHD ; aa 77-91) et les sites de liaison des complexes Fe-S (SDHB ; aa 166-175 et 214-219). Une similarité structurale entre le Q-site du complexe SQR d'*E. coli* et de mitochondries de porc renforce la notion de permanence structurale du complexe entre les organismes (Yankovskaya et coll., 2003 ; Sun et coll., 2005 ; Horsefield et coll., 2006 ; Ruprecht et coll., 2009). Cependant, peu de structures cristallographiques du complexe mitochondrial SQR ont été publiées et de nombreux articles portent sur des comparaisons de séquences non validées au plan d'une structure à résolution atomique. Ainsi si les

structures sont semblables, elles peuvent différer légèrement entre espèces avec des affinités différentes pour les inhibiteurs au site de liaison de l'ubiquinone.

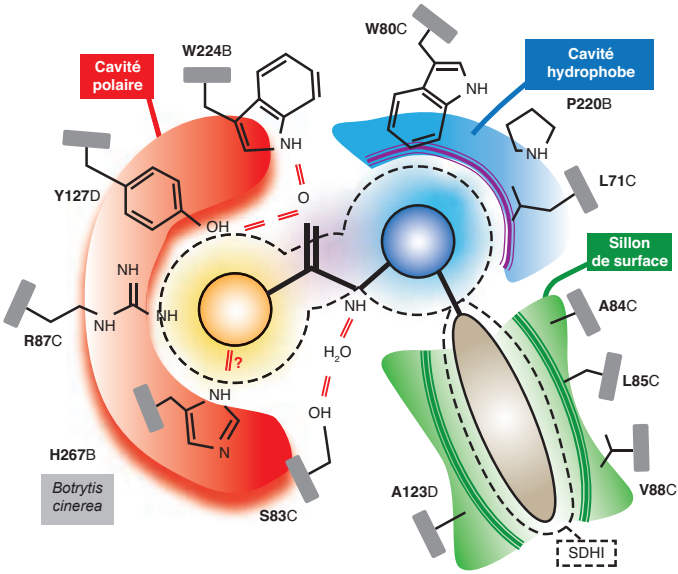


Figure 20.5 : Représentation schématique de l'interaction des SDHi avec le site de liaison de l'ubiquinone du complexe II mitochondrial (d'après Bénit et coll., 2019)

Les SDHi (représentés par la molécule entourée par la ligne pointillée) interagissent *via* leur groupement acide (en jaune) et amine (en bleu) avec des résidus d'acides aminés conservés (en gras) dans la cavité polaire (en rouge), la cavité hydrophobe (en bleu), ou le sillon de surface (en vert) des sous-unités SDHB, SDHC ou SDHD. À noter, la numérotation, qui diffère de celle dans le texte, est basée sur la séquence de *Botrytis cinerea*. (Figure traduite de l'anglais)

Inhibition in vitro *de l'activité de la succinate déshydrogénase de différentes espèces par les SDHi*

Plusieurs études ont mesuré des valeurs des constantes de liaisons des inhibiteurs dans le Q-site du complexe II chez différents organismes et les résultats permettent de vérifier expérimentalement l'hypothèse d'une absence de spécificité des SDHi.

Récemment, les IC_{50} de huit SDHi ont été mesurées dans des préparations enrichies en mitochondries obtenues à partir de cellules humaines, de lombric, d'abeille, et de champignon. Ces mesures montrent un potentiel inhibiteur des SDHi sur l'activité de la SDH, de l'ordre du micromolaire chez le champignon et l'être humain, avec des variations en fonction du SDHi utilisé (figure 20.6) (Bénit et coll., 2019). Cependant, il faut noter que la préparation des extraits varie en fonction de l'espèce, allant d'une purification

de mitochondries (*B. cinerea*, *Apis mellifera*), sans indication de critères de qualité des préparations mitochondriales, à un lysat (*Lumbricus terrestris*, *Homo sapiens*) et réalisée à partir d'une seule préparation par organisme.

Une autre étude a mesuré les valeurs d'IC_{50} du flutolanil sur l'activité SDH entre l'ascaris et son hôte, le porc, et a montré qu'elles sont très différentes, respectivement de 0,058 µM et 45,9 µM alors qu'il y a conservation de la structure du complexe II (Inaoka et coll., 2015). Cette différence (facteur d'environ 800 fois) est expliquée par la liaison plus forte du flutolanil dans la structure de la SDH d'ascaris évaluée d'après des données cristallographiques (Inaoka et coll., 2015). D'autres études, publiées par des industriels des phytosanitaires, ont comparé les IC_{50} des SDHi entre espèces. Nakano et coll. ont montré que les IC_{50} du pyflubumide pour la SDH d'un acarien (*Tetranychus urticae*), du rat et de la truite présentent une variabilité importante, de l'ordre de 400 fois (Nakano et coll., 2015). Une deuxième étude a montré des différences d'IC_{50} entre 7 800 et 17 700 fois entre la souris et deux champignons (*B. cinerea* et *Sclerotinia sclerotiorum*) respectivement pour le pyraziflumid, mais cet article ne précise pas la nature des échantillons biologiques sur lesquels les mesures ont été réalisées (Kikutake et coll., 2020). Les études disponibles suggèrent donc que les valeurs d'IC_{50} pourraient être très différentes d'une espèce à l'autre mais ne permettent pas d'évaluer objectivement la spécificité des SDHi vis-à-vis des champignons au regard d'espèces non-cibles. Cette caractérisation requiert des études supplémentaires rigoureuses, en particulier quant à la nature, l'homogénéité et la préparation des échantillons biologiques sur lesquels sont mesurées les IC_{50}.

La comparaison des IC_{50} entre études est problématique en raison des facteurs influençant les résultats des essais d'activité enzymatique (nature des extraits, présence d'inhibiteurs, quantité de l'enzyme présente dans la réaction...). Les résultats sur les différents SDHi et espèces ne permettent pas de conclure définitivement à une action des SDHi sur la respiration cellulaire chez les organismes non-cibles à des concentrations représentatives de l'exposition environnementale à ces fongicides. D'autres études, réalisées avec des contrôles expérimentaux rigoureux sur des échantillons de nature homogène (par exemple des préparations de mitochondries isolées) et incluant des contrôles sur la qualité des préparations, sont nécessaires pour lever les incertitudes et mieux caractériser ces effets. En particulier, la détermination d'IC_{50} *in vitro* sur des extraits cellulaires devrait être complétée par des mesures de la respiration cellulaire après une exposition aux SDHi sur cellule intacte.

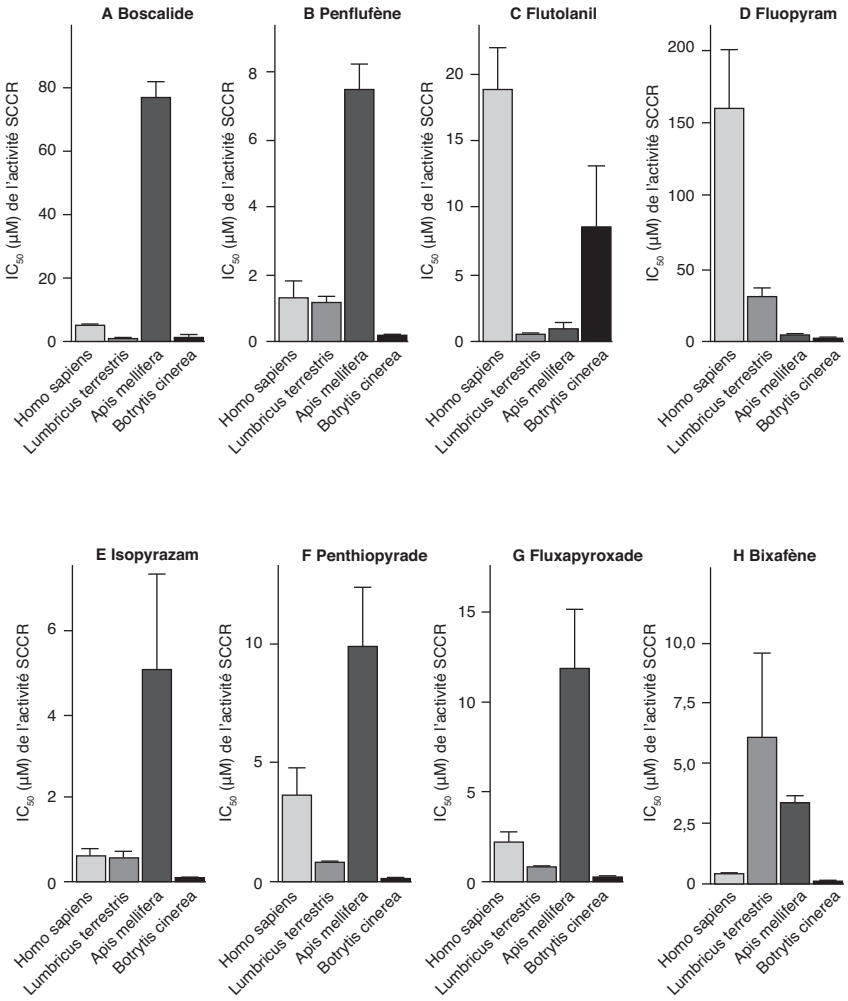


Figure 20.6 : Potentiel inhibiteur des SDHi sur la SDH mesurée sur des préparations de mitochondries de différents organismes (d'après Bénit et coll., 2019)

Les graphiques montrent les concentrations inhibitrices médianes (IC_{50}) des substances actives testées par l'activité de la succinate-cytochrome c-réductase (SCCR).
(Figure traduite de l'anglais)

Par ailleurs, l'estimation d'un effet toxique sur les organismes (c'est-à-dire *in vivo* sur un organisme entier) devra prendre en compte les différentes caractéristiques de toxicocinétique (absorption, distribution, métabolisme, excrétion), de toxicodynamique ou de biotransformation entre les organismes, et également des différences fines de structure de la SDH et du contexte lipidique en interaction avec les sous-unités SDHC et SDHD.

Sensibilité aux SDHi de cellules de patients présentant un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire

Dans les fibroblastes de patients présentant une altération de la chaîne respiratoire liée ou non à un déficit d'origine génétique en SDH (un patient avec un syndrome de Leigh porteur d'une mutation homozygote du gène *SDHA*, un patient avec une ataxie de Friedreich et un patient avec une maladie d'Alzheimer familiale), il a été observé une sensibilité accrue au bixafène et au fluxapyroxade par rapport à des fibroblastes de sujets contrôles, avec une augmentation significative du stress oxydant et de la mort cellulaire (Bénit et coll., 2019). Les auteurs de cette étude, à partir de ces données limitées soulèvent l'hypothèse que les personnes atteintes d'un dysfonctionnement mitochondrial, en particulier touchant la chaîne respiratoire, pourraient présenter une susceptibilité accrue aux éventuels effets toxiques des SDHi.

Génotoxicité et cancérogénicité

La plupart des données disponibles sur les effets cancérogènes des SDHi proviennent des dossiers techniques soumis par les firmes au moment de la demande d'autorisation de mise sur le marché européen des substances actives.

Les tests effectués incluent des essais de génotoxicité et de mutagenèse *in vitro* (sur cellules bactériennes et cellules de mammifères en culture) et *in vivo* (sur des cellules somatiques et germinales de mammifères prélevées sur des animaux exposés), ainsi que des tests de cancérogénicité sur des modèles animaux (généralement rongeurs). Ces premiers tests concluent pour la majorité des SDHi à une absence de génotoxicité (tableau 20.V). Une étude provenant d'une équipe de recherche académique s'intéressant à l'effet du bénodanil sur des lymphocytes humains rapporte un résultat négatif pour l'essai du micronoyau qui évalue un effet de cassure ou d'anomalie de répartition des chromosomes entre les cellules filles (effet clastogène ou aneugène, respectivement) (Akyil et coll., 2016).

En ce qui concerne l'évaluation réglementaire de la cancérogénicité au niveau européen, les tests sont réalisés *in vivo* après une administration répétée pendant 2 ans chez le rat et 18 mois à 2 ans chez la souris suivant la ligne directrice OCDE TG 451 ou une combinaison entre cancérogenèse (2 ans) et test de toxicité chronique (TG 453). Les données publiées par l'Efsa et l'Echa montrent que la plupart des SDHi augmentent l'incidence des adénomes et des carcinomes dans différents organes, principalement le

foie mais aussi la thyroïde, le poumon et l'utérus (tableau 20.V), avec pour certains un dimorphisme sexuel puisque les atteintes ne sont pas les mêmes chez les animaux mâles et les femelles (tumeurs hépatiques et thyroïdiennes, astrocytomes).

Tableau 20.V : Génotoxicité, cancérogénicité et classification cancérogène des fongicides SDHi autorisés au niveau européen (d'après Anses, 2019 ; rapports Efsa, site de l'Echa[1])

Substance active	Génotoxicité	Cancérogénicité	Proposition de classification Efsa	Classification Echa
Benzovindiflupyr	Non	Tumeurs thyroïdiennes (rat)	Non classé	Non classé
Bixafène	Non	Non	Non classé	Non classé
Boscalide	Non	Non	Non classé	Non classé
Carboxine	Oui *in vitro* Non *in vivo*	Hépatocarcinomes (rat) ; adénomes pulmonaires (souris)	Carc 3[2]	Non classé
Fluopyram	Non	Adénomes et carcinomes hépatiques (rats femelles) ; adénomes folliculaires de la thyroïde (souris mâles)	Carc 3[3]	Non classé
Flutolanil	Non	Non	Non classé	Non classé En cours
Fluxapyroxad	Non	Tumeurs hépatiques (rat) ; adénomes folliculaires de la thyroïde (rats mâles)	Carc 2	Non classé
Isofétamide	Non	Non	Non classé	Non classé
Isopyrazam	Non	Adénomes hépatocellulaires (rat) et adénocarcinomes utérins (rat)	Carc 2	En cours
Penflufène	Non	Adénome hépatique (rats mâles) ; carcinome hépatique (rat) ; adénomes ovariens (rat) ; astrocytomes (rats mâles) ; sarcomes histiocytaires (rats mâles)	Carc 2	Carc 2
Penthiopyrade	Non	Adénomes folliculaires de la thyroïde (rats mâles) ; adénomes hépatiques et hépatocarcinomes (souris mâles)	Carc 2	Non classé
Sédaxane	Non	Adénomes hépatiques et thyroïdiens (rats mâles), adénocarcinomes utérins (rat) ; adénomes hépatiques (souris mâles)	Carc 2	Carc 2

Classification harmonisée (Règlement CE n° 1272/2008) Carc 2 : « susceptible de provoquer le cancer » ; Carc 3 : « effet cancérogène suspecté, preuves insuffisantes ». Le cyflumétofène, un insecticide SDHi autorisé au niveau européen, est classé par Echa comme non génotoxique et fait l'objet d'une classification Carc 2.

[1] https://www.echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals [consulté le 1er avril 2020].

[2] Source : https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2010.1857 [consulté le 27 août 2020]. À noter que la classification Efsa indiquée dans l'avis de l'Anses est « Carc 2 » (Anses, 2019).

[3] Source : https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2013.3052 [consulté le 27 août 2020]. À noter que la classification Efsa indiquée dans l'avis de l'Anses est « Carc 2 » (Anses, 2019).

Ces observations ont conduit l'Efsa à proposer le classement de certains SDHi comme cancérogènes de catégorie 2 mais ces propositions n'ont pas toujours été retenues par l'Echa. Sur la base de publications scientifiques réalisées par les firmes (Rouquié et coll., 2014 ; Tinwell et coll., 2014 ; Peffer et coll., 2018 ; Plummer et coll., 2018) ou d'études non publiées mais référencées en interne lors de l'évaluation réglementaire, le mécanisme d'action rapporté pour rendre compte des effets cancérigènes des SDHi évoque l'activation du récepteur nucléaire CAR (*constitutive androstane receptor*). Principalement considéré comme un récepteur de xénobiotiques (par exemple des pesticides et des médicaments) très exprimé dans le foie et l'intestin, mais se liant également à des molécules endogènes, l'activation de CAR déclenche la régulation transcriptionnelle d'enzymes (de la famille des cytochromes, des uridine diphospho glucuronyltransférases...) et de transporteurs intervenant dans la métabolisation et l'élimination de substances exogènes et endogènes. Son activation dans les hépatocytes de souris ou de rats stimule la synthèse de l'ADN et la prolifération cellulaire, favorisant ainsi le développement de lésions prénéoplasiques focales (nodules hyperplasiques) qui peuvent conduire à des tumeurs du foie bénignes (adénomes) ou malignes (carcinomes). Toutefois, ce mécanisme est considéré comme spécifique aux rongeurs car de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* montrent que l'activation de CAR dans les cellules humaines n'induit pas la synthèse de l'ADN, comme il a été largement documenté pour l'hépato-cancérogenèse différentielle du phénobarbital entre le rat et l'être humain (Elcombe et coll., 2014). La problématique de la pertinence de ce mécanisme d'action pour l'être humain, et donc plus généralement du recours à des modèles de rongeurs dans le cadre de l'évaluation du potentiel cancérogène des substances chimiques fait encore l'objet de débat (Felter et coll., 2018). Par ailleurs, les études de cancérogénicité réalisées révèlent aussi l'apparition de tumeurs dans des tissus exprimant peu ce récepteur (thyroïde, utérus, ovaire...).

Toutefois, un mécanisme d'action impliquant CAR est également évoqué pour expliquer la survenue des tumeurs de la thyroïde chez les rongeurs observées en lien avec l'exposition à certains SDHi, notamment le sédaxane (Rouquié et coll., 2014), le fluopyram, le fluxapyroxade et le penthiopyrade sur la base d'un mécanisme reliant le métabolisme hépatique et la fonction thyroïdienne[114]. L'activation de CAR induit en effet l'expression hépatique de l'enzyme UGT1A1 (*UDP-glucurunosyltransférase 1 polypeptide A1*) qui

114. Sources : documents de l'Echa CLH-O-0000001412-86-46/F (https://echa.europa.eu/documents/10162/27e65bc5-6daf-118a-1f47-09fc774b6538), CLH-O-0000001412-86-254/F (https://echa.europa.eu/documents/10162/f21ff9a9-fbec-7faf-bc9e-c126f329599f), et CLH-O-0000001412-86-78/F (https://echa.europa.eu/documents/10162/2095a6a7-e83b-1d9a-4d46-6b537c4739a7) [consulté le 14 septembre 2020].

intervient dans la clairance des hormones thyroïdiennes (HT) en stimulant la conjugaison et l'élimination biliaire de la thyroxine. Ce mécanisme de clairance exerce un rétrocontrôle sur l'axe hypothalamo-hypophysaire thyroïdien lequel conduit à une production compensatrice de TSH (*thyroxin stimulating hormone*). La TSH, en stimulant la thyroïde, participe à un processus d'hyperplasie qui, dans le cas d'une activation chronique, peut conduire à une tumeur. Ce mécanisme n'est pas transposable à la régulation du taux d'HT chez l'être humain qui exprime la *thyroxine binding globulin* (TBG) sérique, absente chez le rat, avec pour conséquence une demi-vie des HT plus courte chez le rat. De plus, la glande thyroïde stocke une quantité de thyroglobuline bien plus élevée chez l'être humain ce qui limite le recours à un état d'hyperplasie compensatrice (Hurley, 1998). Le cas particulier de l'association entre l'exposition à ces SDHi et la survenue de cancer de la thyroïde chez les rongeurs n'a pas été jugé pertinent pour l'être humain par les agences réglementaires, selon la mise en application du principe de déclassification « *mode of action* » en se référant aux critères établis par le WHO/IPCS (*World Health Organization/International Programme on Chemical Safety*) (Boobis et coll., 2006 ; Meek et coll., 2014).

Effets sur le développement et le système endocrinien

Le poisson zèbre (*Danio rerio*) est un modèle expérimental intéressant pour étudier les mécanismes par lesquels les facteurs de stress externes, dont les contaminants, sont susceptibles de perturber les fonctions biologiques chez les vertébrés. Ils présentent de nombreux avantages (leur facilité de manipulation, rapidité de l'embryogénèse, cycle de vie court...), qui ont conduit à leur utilisation répandue en toxicologie. Une vingtaine d'études portant sur la toxicité des SDHi chez les poissons zèbres ont été identifiées. Ces études, menées essentiellement par des groupes de chercheurs chinois, ont été réalisées sur les embryons et larves sur des temps courts d'exposition (la majorité sur 96 h), ou sur les poissons adultes dans des conditions d'exposition chronique (généralement 28 ou 60 jours).

Toutes les substances testées sur les embryons (bixafène, boscalide, flutolanil, fluxapyroxade, isopyrazam, penthiopyrade, sédaxane, et thifluzamide) ont des effets toxiques et induisent des malformations et des anomalies de développement (œdème péricardique, scoliose, pigmentation, développement cérébral anormal) et de comportement. Ces effets sont associés, dans plusieurs de ces études, à des anomalies structurelles et fonctionnelles des mitochondries, à l'induction d'un stress oxydant et à une induction de l'apoptose et des altérations du métabolisme des lipides (Yang et coll., 2016b ; Yang et

coll., 2016a ; Qian et coll., 2018a ; Teng et coll., 2018 ; Yao et coll., 2018b ; Yao et coll., 2018a ; Qian et coll., 2019a ; Yang et coll., 2019c ; Yang et coll., 2019b ; Li et coll., 2020a ; Li et coll., 2020b ; Wang et coll., 2020). À ces études s'ajoute une étude française récente qui montre que l'exposition des embryons au bixafène à des concentrations ≥ 0,2 µM (≥ 0,083 mg/l) provoque des anomalies du développement cérébral et une inhibition de la croissance des motoneurones spinaux (Brenet et coll., 2020).

Deux SDHi semblent aussi avoir des effets de perturbation endocrinienne chez les embryons : le thifluzamide qui conduit à une diminution de l'hormone de croissance dans des extraits d'embryons entiers à des concentrations ≥ 0,19 mg/l (Yang et coll., 2019b), et le flutolanil qui augmente la production des hormones thyroïdiennes tri-iodothyronine et thyroxine, et perturbe l'expression de plusieurs gènes intervenant dans la fonction thyroïdienne (*TRH*, *TSHR*, *TPO*, *Dio1*, *TR*α, et *UGT1ab*) à des concentrations ≥ 0,5 mg/l (Teng et coll., 2018). Ces deux SDHi augmentent également l'expression de la mélatonine et perturbent le cycle circadien (Yang et coll., 2019c ; Yang et coll., 2019b).

Tous les SDHi testés sur les poissons adultes ont un effet hépatotoxique avec des lésions (dégénérescence graisseuse et vacuolisation des hépatocytes) observées à partir de 21 jours d'exposition à 0,19 mg/l de thifluzamide (Yang et coll., 2016b ; Yang et coll., 2017 ; Yang et coll., 2018a ; Yang et coll., 2018b), après 28 jours d'exposition à 0,1 mg/l de boscalide (Qian et coll., 2019b) et après 60 jours d'exposition à 0,05 mg/l de flutolanil (Teng et coll., 2019). Une induction d'un stress oxydant et de l'apoptose et une altération du métabolisme des glucides et des lipides ont également été mises en évidence dans ces conditions expérimentales. Plus récemment, Qian et coll. ont montré que les poissons zèbres adultes exposés à 1 mg/l de boscalide pendant 21 jours présentent des anomalies histopathologiques de la rétine et du cerveau, ainsi qu'une diminution de la locomotion et de la capacité de prédation (Qian et coll., 2021). En outre, cette étude a mis en évidence des effets neurotoxiques chez les larves à partir de 4 jours d'exposition à 1,2 mg/l de boscalide.

Enfin, certains SDHi semblent avoir des effets de perturbation endocrinienne chez les poissons adultes. C'est le cas pour le thifluzamide qui stimule l'expression de l'hormone de croissance dans le foie et inhibe la sécrétion de la leptine (Yang et coll., 2019a). Le flutolanil, quant à lui, a un effet œstrogénique. Les poissons mâles exposés au flutolanil à des concentrations faibles (≥ 0,25 µg/l) pendant 60 jours montrent une augmentation de la concentration plasmatique de 17β-estradiol et une diminution de celle de testostérone (Teng et coll., 2020). L'exposition des poissons femelles au flutolanil

conduit à une augmentation de la concentration plasmatique de 17β-estradiol et une perturbation du profil de méthylation génomique dans l'ovaire. Ces modifications ont pour conséquence des effets néfastes sur la reproduction. Les embryons issus des croisements des animaux exposés sont plus petits et ont un taux de mortalité plus élevé. Plus récemment, ce même groupe a montré que l'exposition pendant 21 jours à 1 mg/l de boscalide est associée à un effet oestrogénique chez les poissons mâles et que, contrairement au flutolanil, il possède une activité anti-oestrogénique chez les femelles (diminution du taux plasmatique de 17β-estradiol et peturbation de la fertilité) à des concentrations ≥ 0,01 mg/l (Qian et coll., 2020).

Ces effets toxiques semblent donc indiquer que les SDHi perturbent le développement, le métabolisme et certaines fonctions hormonales, et suggèrent que ces fongicides pourraient être considérés, au moins chez les poissons, comme des perturbateurs endocriniens. Cependant, il est à noter que les résultats *in vivo* suggérant une perturbation endocrinienne proviennent seulement de deux groupes et doivent être confirmés. Des données dans d'autres espèces et modèles expérimentaux n'ont pas été identifiées, sauf pour le boscalide qui inhibe l'expression de la prostaglandine D2 dans une lignée de cellules de souris (Kugathas et coll., 2016). Il est à noter que les rapports d'évaluation des risques de l'Efsa rapportent des effets perturbateurs endocriniens potentiels chez les rats pour le benzovindiflupyr (effets sur la reproduction), et pour le fluopyram et le penflufène, des lacunes dans les données n'ont pas permis à l'agence de conclure définitivement à l'absence d'effets perturbateurs endocriniens (Efsa, 2013 ; Efsa, 2015 ; Efsa, 2016).

Données d'écotoxicologie

Il existe un certain nombre d'études d'écotoxicologie démontrant des effets délétères de l'exposition aux SDHi sur les écosystèmes et la biodiversité[115]. Outre le fait que les effets mis en évidence peuvent avoir des éventuelles répercussions sur la santé humaine, ces travaux sont importants pour mieux comprendre les processus biologiques qui pourraient être altérés par les SDHi.

SDHi et abeilles

Les abeilles mellifères peuvent être exposées aux pesticides pendant de longues périodes, à travers l'eau contaminée, le pollen et le nectar. Certaines

115. L'analyse des données d'écotoxicologie dépasse le cadre de cette expertise et la composition du groupe d'experts, ciblant les effets sanitaires, n'est pas adaptée pour en faire une analyse exhaustive. Cependant, il est apparu fondamental de mentionner et d'explorer cet aspect qui pourrait faire l'objet d'une expertise multidisciplinaire plus complète.

plantes affichées comme favorisant les pollinisateurs se retrouvent contaminées par des pesticides dont des SDHi comme le boscalide ; une étude de 2017 utilisant la spectrométrie de masse, a détecté le boscalide dans les feuilles de 14 sur 29 espèces ou variétés de plantes mellifères à une concentration moyenne de 37 ng/g (Lentola et coll., 2017). Dans une étude conduite dans la région Rhône-Alpes, le boscalide est l'un des pesticides les plus détectés chez les abeilles, à des fréquences au moins aussi élevées que les néonicotinoïdes (14 %), et à des concentrations de 1 à 47,6 ng de boscalide/g de poids corporel (Daniele et coll., 2018). La cire ainsi que le pain d'abeille (nourriture des larves) sont également fréquemment contaminés par le boscalide par rapport à d'autres pesticides, avec des niveaux dans le pain d'abeille pouvant atteindre plus de 700 ng/g de pain (Daniele et coll., 2018). Dans la cire, le boscalide est détecté dans 39 % des échantillons avec des concentrations supérieures à 300 ng de boscalide/g de cire (Daniele et coll., 2018).

Dans une autre étude, concernant cette fois la région de l'East Sussex au Royaume-Uni, David et coll. ont décrit la présence de résidus de boscalide dans le pollen de colza (jusqu'à 25 ng/g) et le pollen de fleurs de bords de champs (jusqu'à 38 ng/g) (David et coll., 2016). Ces travaux mettent également en évidence que les abeilles qui collectent ce pollen rapportent les résidus à la ruche (jusqu'à 21 ng/g), bien que les quantités de boscalide détectées dans les abeilles soient moindres, de 0,24 à 9,8 ng/g de poids corporel (David et coll., 2016). Ces variations soulignent les différences de contamination des abeilles en fonction des régions et donc des cultures et traitements des parcelles. Dans une étude subséquente menée dans la même région, ces auteurs ont montré également une haute fréquence de détection du boscalide dans 35 % des bourdons sauvages, à des concentrations allant jusqu'à 54,5 ng/g et une variabilité de la contamination en fonction des espèces de bourdons et en fonction de la saison (Botias et coll., 2017). Il est à noter que bien que le niveau de contamination soit globalement plus élevé dans les zones arables (jusqu'à 31,7 ng/g de poids corporel), le boscalide est aussi détecté dans des bourdons collectés en zone urbaine (jusqu'à 54 ng/g de poids corporel). Enfin, une exposition de larves à la Pristine (une formulation contenant du boscalide) affecte leur survie à l'âge adulte, avec un effet significativement potentialisé en mélange avec d'autres résidus d'insecticides à faible dose (Wade et coll., 2019).

Un test de toxicité chronique des produits chimiques chez l'abeille est défini dans les lignes directrices de l'OCDE. Ce test (OCDE essai n° 245), utilisé pour générer des données à des fins réglementaires, implique l'exposition des ouvrières adultes à une substance chimique (par exemple un pesticide) par voie orale pendant une période de 10 jours au cours de laquelle la mortalité

et les anomalies de comportement sont mesurées quotidiennement. En 2018, Simon-Delso et coll. ont montré que la mortalité des abeilles exposées au boscalide est faible avant 10 jours d'exposition (Simon-Delso et coll., 2018). Le temps létal 50 % (TL_{50} ; temps d'exposition pour lequel la mortalité de la population d'abeilles est de 50 % à une concentration de substance active donnée) est de 25 jours pour la concentration de boscalide la plus faible testée (1,125 mg/l). De plus, la concentration létale 50 % (CL_{50} ; concentration de substance active pour laquelle 50 % de la population d'abeilles est morte après une période d'exposition donnée) est dix fois plus élevée à 8 jours qu'à 25 jours (respectivement 14,7 et 1,17 mg/l). Ces observations, qui méritent d'être reproduites, soulignent le fait que les approches « exposition jusqu'à la mort » sont plus pertinentes que les approches « exposition à durée fixe », en particulier pour les doses d'exposition faibles (Simon-Delso et coll., 2018).

L'exposition des abeilles au boscalide peut également altérer certaines fonctions physiologiques. Ainsi, il a été démontré que des abeilles nourries avec du pollen dont les cultures ont été traitées à la Pristine digéraient moins le pollen et présentaient une plus forte charge virale, et une baisse des concentrations en ATP, évoquant une dérégulation métabolique possiblement liée à une malnutrition (DeGrandi-Hoffman et coll., 2015 ; Campbell et coll., 2016). Il est important de noter que de tels symptômes rendent les abeilles vulnérables à d'autres stresseurs environnementaux, comme les parasites (*Nosema ceranae*) et les pathogènes. Ainsi, associé à *N. ceranae*, le boscalide impacte la composition du microbiote intestinal des abeilles (alpha-protéobactéries et gamma-protéobactéries) dont l'importance dans la régulation de la fonction du système nerveux est de plus en plus soulignée (Paris et coll., 2020). À titre d'exemple, une étude récente démontre que le boscalide réduit la fréquence de battement d'ailes des butineuses pendant le vol, sans modifier toutefois la durée du vol, ainsi que l'efficacité des butineuses au niveau de la colonie (Liao et coll., 2019). De plus, la Pristine modifie le comportement relatif à la reconnaissance du nid chez les abeilles solitaires (Artz et Pitts-Singer, 2015).

SDHi et écosystèmes aquatiques

Les effets délétères des pesticides sur les organismes aquatiques et plus particulièrement les poissons, sont aujourd'hui de plus en plus documentés (Bony et coll., 2008 ; Gandar et coll., 2017). En plus de constituer un modèle de choix pour les études de toxicologie (voir ci-dessus), les poissons sont des indicateurs sensibles de la qualité des écosystèmes aquatiques.

Chez l'amphibien *Xenopus tropicalis*, l'exposition au bixafène ou à l'isopyrazam à des concentrations ≥ 1 mg/l conduit à des effets tératogènes avec des microcéphalies, des défauts de mise en place des somites et des hypopigmentations (Wu et coll., 2018). De nombreux fongicides SDHi sont commercialisés sous forme de formulations contenant, outre la ou les substances actives, d'autres composés (tensioactifs, solvants, stabilisants, antimoussants, conservateurs...) qui peuvent posséder leur propre toxicité et/ou interférer avec les substances actives. Ces formulations peuvent contenir plus d'une substance active SDHi, ou un SDHi avec un fongicide de la famille des triazoles qui inhibe la synthèse des stérols. D'autres contiennent des fongicides de la famille des strobilurines (pyraclostrobine, dimoxystrobine, fluoxastrobine, krésoxime-méthyle) qui inhibent la respiration cellulaire en agissant sur le complexe III de la chaîne respiratoire et qui pourraient donc potentialiser les effets des SDHi sur la fonction mitochondriale. En effet, l'exposition des embryons de xénope à un mélange de deux SDHi (bixafène et l'isopyrazam) ou d'un SDHi et une strobilurine entraîne des effets toxiques synergiques (Wu et coll., 2018). Cela souligne l'importance de tester non seulement les substances actives mais aussi les formulations dans des études de toxicologie.

Parmi les espèces aquatiques, on peut également citer les micro-algues comme *Chlorella vulgaris* dont la photosynthèse et la croissance sont altérées par la présence du boscalide dans l'eau (1,6 mg/l) (Qian et coll., 2018b).

Enfin, les fongicides pourraient également avoir un effet négatif sur les écosystèmes d'eau douce en altérant la décomposition des feuilles mortes réalisée par des champignons aquatiques (présents dans les ruisseaux par exemple), ce qui réduirait la formation d'un substrat nutritif essentiel pour la flore microbienne et les amphipodes (crustacés). En effet, Elskus et coll. ont montré que la Pristine (contenant le boscalide) entraîne une baisse de la croissance microbienne et par conséquence de la biomasse des amphipodes (Elskus et coll., 2016).

SDHi et écosystèmes du sol

Certains SDHi sont vendus pour leurs propriétés nématicides, par exemple sous la formulation *Indemnify*, utilisé pour les gazons, terrains de football ou de golf. Le fluopyram qu'il contient affecte la viabilité des nématodes ainsi que leur comportement d'attraction pour les racines (Oka et Saroya, 2019). Mais, ils présentent aussi l'inconvénient de détruire de nombreux organismes vivants utiles. En effet, les travaux récemment publiés par Bénit et coll. montrent que les principaux SDHi bloquent la SDH du ver de terre (Bénit et coll., 2019). Le fluopyram et la carboxine sont fortement toxiques pour

le ver de terre *Eisenia andrei*, avec un blocage des mécanismes de détoxication qui concourt à la rétention de ces pesticides dans les organismes (Velki et coll., 2019). Le thifluzamide inhibe la croissance et la reproduction des vers à des doses de 10 mg/kg de sol après 28 jours. Cela est associé à un blocage de la SDH dès 1 mg/kg de sol (Yao et coll., 2020). Des études sur le polychète estuarien *Simplisetia aequisetis* en Australie montrent que des doses sub-létales de boscalide modifient précocement (48 h) le métabolome du ver, avec une forte altération du cycle de Krebs, et des voies de détoxication impliquées dans la synthèse de glutathion, probablement mobilisées pour éliminer le boscalide. Cela se traduit ensuite au niveau physiologique par une baisse de réserves énergétiques lipidiques et une augmentation de la mortalité après 336 h d'exposition (Sinclair et coll., 2019). Par ailleurs, la carboxine associée au thirame, un fongicide non-SDHi, à des doses supérieures à 50 mg/kg de sol inhibe la reproduction et modifie le comportement d'évitement du ver *E. andrei* (Alves et coll., 2013).

Données épidémiologiques : exposition aux SDHi et survenue de pathologies

Dans le cadre de cette expertise, une recherche bibliographique détaillée a été menée afin d'identifier des études épidémiologiques ayant porté sur les effets de ces fongicides sur la santé humaine. À défaut d'une connaissance structurée, suivie et contrôlée des usages réels de pesticides en France ainsi que dans d'autres régions du monde, il est difficile d'analyser à travers des études épidémiologiques le rôle d'une substance active spécifique dans la survenue d'une maladie. La reconstitution rétrospective des expositions est rendue complexe par la multiplicité des produits utilisés par les professionnels, par la fréquence des associations de produits au cours d'une journée, d'une saison et encore plus d'une vie, par la variation de leurs usages selon les cultures, les périodes, et les zones géographiques, par la fréquente méconnaissance des travailleurs vis-à-vis des substances auxquelles ils ont été exposés et la difficulté à fournir a posteriori des calendriers de traitement. Or, pour les effets chroniques tels que des cancers ou des pathologies dégénératives, une latence d'une à plusieurs décennies doit être prise en compte dans l'évaluation. Concernant les fongicides SDHi, environ la moitié des matières actives a été introduite sur le marché après 2010, ce qui ne permet pas à ce jour de disposer d'un recul suffisant pour l'étude d'effets chroniques possibles. Une seule molécule de cette famille est actuellement sur le marché français depuis plus de 50 ans, la carboxine, une autre depuis plus de 25 ans, le flutolanil, et une dernière depuis 14 ans, le boscalide. Les autorisations

des produits contenant la carboxine ont été retirées fin 2018 en France, alors que le flutolanil et le boscalide sont toujours autorisés. Il est notable que deux de ces molécules (carboxine et flutolanil) l'étaient dans des usages spécifiques : la carboxine pour le traitement de semences de céréales, et le flutolanil pour le traitement des tubercules de pommes de terre. Le boscalide pour sa part est utilisé en application sur diverses cultures (vignes, céréales, colza, légumes...).

Dans le cadre de cette expertise, plusieurs algorithmes de recherche bibliographique ont été construits pour identifier des études épidémiologiques portant sur les effets sanitaires possibles de ces molécules (voir addenda en fin de chapitre : paragraphe « Algorithmes de recherche bibliographique »). En premier lieu les noms des matières actives ont été introduits dans des algorithmes en les conjuguant avec des termes relatifs aux études épidémiologiques. De la même manière, le mécanisme « inhibition de la succinate déshydrogénase » a été associé aux termes relatifs aux études épidémiologiques. Les noms des familles chimiques (carboxamides et benzamides) de ces molécules ont également été utilisés, en ajoutant des termes relatifs aux usages (pesticides, fongicides, insecticides, acaricides, herbicides). Enfin, compte tenu des usages spécifiques de certaines de ces substances, des algorithmes ont inclus des termes relatifs au traitement de semences ou à la culture de pommes de terre.

L'ensemble de ces recherches n'a pas permis d'identifier d'étude épidémiologique ayant analysé de manière spécifique le lien entre l'exposition à un fongicide SDHi et un évènement de santé, à l'exception de celle publiée par Béranger et coll. (2020). Cette étude réalisée au sein de la cohorte ELFE en France a révélé la présence de boscalide dans les cheveux des mères (195 échantillons positifs pour la présence de boscalide sur 311 échantillons de cheveux de mères testés) mais n'a pas montré d'association entre l'exposition maternelle au boscalide (estimée par la mesure de sa concentration dans les cheveux, médiane des concentrations mesurées de 0,55 pg/mg de cheveu) et les paramètres anthropométriques des enfants à la naissance (poids, taille et périmètre crânien), suggérant l'absence d'association de l'exposition au boscalide pendant la grossesse sur la croissance intra-utérine.

Nous avons également examiné les articles renseignant de façon indirecte les expositions professionnelles aux substances actives les plus anciennement mises sur le marché, notamment à travers des activités liées aux traitements des tubercules de pommes de terre ou cultures de pommes de terre (flutolanil), de cultures variées (boscalide), ou aux traitements de semences (carboxine par exemple).

Exposition potentielle au flutolanil lors de la culture de pommes de terre

Il n'a pas été identifié d'étude portant sur la santé des personnes réalisant le traitement des tubercules de pommes de terre, potentiellement exposées au flutolanil. De manière plus large, peu d'études ont exploré spécifiquement la santé des cultivateurs de pommes de terre, dont certains auraient pu réaliser ces traitements et/ou être au contact de la substance par manipulation de tubercules traités. Au sein de la cohorte AGRICAN, des analyses ont été menées selon le type de cultures produites par les agriculteurs pour les cancers de la prostate, du poumon, de la vessie, du cerveau, les lymphomes malins non hodgkiniens et les myélomes multiples, et pour les sarcomes des tissus mous. Pour le cancer de la prostate, une élévation de risque était observée chez les cultivateurs de pommes de terre qui avaient été exposés aux pesticides (OR = 1,21 ; IC 95 % [1,02-1,44]) (Lemarchand et coll., 2016). De même, pour les tumeurs cérébrales, les cultivateurs de pommes de terre présentaient une élévation de risque, plus marquée chez ceux qui utilisaient des pesticides (HR = 2,11 ; IC 95 % [1,19-3,75]) et ceux qui traitaient les semences/plants (HR = 2,84 ; IC 95 % [1,34-6,03]) (Piel et coll., 2017). Cependant, il n'a pas été mené d'analyse spécifiquement sur le flutolanil, et diverses autres molécules ont été utilisées pour ces traitements.

Exposition potentielle au boscalide

Compte tenu de l'autorisation du boscalide sur des cultures variées et très répandues en France (vigne, colza, pois et haricots, betterave sucrière et fourragère, céréales...), et du fait de son usage classique en tant que traitement des parties aériennes des cultures, il n'apparaît pas simple d'identifier des groupes d'agriculteurs ou des tâches spécifiques permettant de cibler les effets possibles de cette substance. Le lien entre cette substance et la survenue de maladies chroniques comme les pathologies cancéreuses ou les maladies neurodégénératives n'a pas été étudié à ce jour dans AGRICAN. Seuls les suivis de la cohorte pourront réellement être informatifs car la molécule a été mise sur le marché en France au moment de l'inclusion dans la cohorte (2005). Dans la cohorte américaine *Agricultural Health Study*, la molécule n'a pas non plus été spécifiquement étudiée à ce jour car elle ne faisait pas partie des 50 molécules intégrées au questionnaire d'inclusion dans la cohorte. On ne dispose donc à ce jour d'aucune étude ayant porté sur les effets spécifiques possibles du boscalide sur la santé des agriculteurs, ni même d'indicateurs indirects qui permettraient d'approcher l'exposition à cette substance.

Exposition potentielle à la carboxine par le traitement de semences

Pour les traitements de semences, qui ont pu être réalisés avec la carboxine à partir de 1968, il n'a pas été identifié d'étude portant spécifiquement sur la santé des personnes exposées à cette substance. Il est à noter que le traitement de semences par la carboxine a été autorisé pour un nombre assez important de cultures, en particulier pour diverses céréales mais aussi le maïs, le soja et les pois. Cependant, de nombreuses autres substances ont été utilisées pour le traitement des semences, et la carboxine elle-même n'était plus utilisée seule dès les années 1970. Elle était toujours associée à d'autres molécules entrant dans la composition des produits de traitement de semences comme le cuivre, le lindane, l'anthraquinone, le thirame, le captane... Ces différents éléments rendent complexes l'étude des effets potentiels spécifiques de la carboxine dans les populations humaines, même à partir d'indicateurs indirects. De manière plus large, alors que de nombreuses études ont porté sur l'impact des traitements de semences (comme les néonicotinoïdes) sur les insectes pollinisateurs, il n'existe que peu d'études sur la santé des agriculteurs réalisant eux-mêmes le traitement de leurs semences ou manipulant des semences traitées avant leur achat. Dans la cohorte AGRICAN, la réalisation de traitements de semences faisait l'objet de questions auprès des participants dans le questionnaire d'inclusion. Une élévation modérée du risque a été observée entre le traitement des semences de céréales et le cancer de la prostate (HR = 1,16 ; IC 95 % [1,01-1,34]) (Lemarchand et coll., 2016). Une augmentation de risque, non statistiquement significative, a également été retrouvée pour le traitement des semences et le cancer de la vessie (HR = 1,24 ; IC 95 % [0,77-1,99]) (Boulanger et coll., 2017). Il n'est pas possible de déterminer le rôle spécifique de la carboxine dans ces élévations de risque.

Conclusion

Les SDHi constituent une famille de fongicides, dont certains, comme la carboxine et le flutolanil sont utilisés depuis plus de trente ans, et d'autres, tels que ceux de seconde génération, depuis une dizaine d'années (boscalide, benzovindiflupyr, isopyrazam, penthiopyrade, sédaxane...). Alors que l'utilisation de la première génération de ces pesticides en France a diminué ces dix dernières années, celle des SDHi de nouvelle génération est en hausse et s'élargit à d'autres spectres d'activité (par exemple pour le traitement contre les nématodes sur les gazons).

La population française est potentiellement exposée aux SDHi par l'air, l'alimentation, l'eau, et le sol (utilisation sur les pelouses de stades ou de golfs),

ou en milieu professionnel lors de la manipulation et l'épandage des produits. En France, les programmes de surveillance dans les différents milieux s'intéressent à plusieurs SDHi, notamment le boscalide (le plus vendu) qui est surveillé et détecté dans le compartiment aérien et les systèmes aquatiques. Le boscalide, avec le flutolanil et la carboxine ont été inclus dans les études françaises de l'alimentation totale (EAT) qui visent à évaluer le risque pour la santé du consommateur et ils font l'objet (avec le bixafène, le fluopyram, le fluxapyroxade, le penthiopyrade et le benzovindiflupyr) d'une surveillance dans les denrées alimentaires. Au niveau européen, les fongicides SDHi ont été quantifiés dans 2,2 % de plus de 500 000 analyses des échantillons d'aliments réalisées en 2018. Parmi seize SDHi mesurés, le fluopyram et le boscalide étaient, de loin, les plus souvent quantifiés et le boscalide a dépassé la limite maximale en résidus dans 0,08 % des échantillons testés. Les SDHi ne figurent pas dans les programmes existants de surveillance biologique humaine en France ; par conséquent, il existe très peu de données sur l'imprégnation de la population générale par ces substances. En France, une seule étude académique, portant sur 311 femmes enceintes de la cohorte ELFE, a quantifié le boscalide avec une fréquence de détection de 63 % dans les cheveux. Aucune étude n'a été retrouvée permettant d'évaluer l'exposition des professionnels aux SDHi.

Le mécanisme d'action des fongicides SDHi est basé sur la perturbation du fonctionnement mitochondrial par l'inhibition de l'activité SDH, un complexe enzymatique impliqué dans la respiration cellulaire (complexe II) et donc essentiel à la vie. Chez l'être humain, les conséquences d'une inactivation génétique de la SDH (mutation de l'un des quatre gènes codant les sous-unités de l'enzyme) sont bien documentées avec le développement de pathologies neurologiques et cancéreuses, notamment liées à l'accumulation du substrat de la SDH, le succinate. Un niveau élevé de cet « oncométabolite » peut entraîner des processus associés à la tumorigenèse comme une dérégulation de l'homéostasie métabolique, un stress oxydant induisant un état de « pseudo-hypoxie » cellulaire, des modifications épigénétiques, et la mise en place d'une transition épithélio-mésenchymateuse impliquée dans le processus métastatique. Si les perturbations mitochondriales d'origine génétique chez l'être humain prédisposent à de nombreuses pathologies, cela ne signifie pas *ipso facto* qu'une inhibition partielle ou totale de l'activité de la SDH, par exemple dans le cas d'une exposition chronique aux SDHi, entraînerait les mêmes effets physiopathologiques.

Néanmoins, le complexe SDH est fortement conservé entre espèces. En effet, des études de cristallographie et de génétique ont montré que la structure de la SDH est conservée d'une espèce à l'autre avec des séquences peptidiques

homologues au niveau du site catalytique. Tout ceci conduit à s'interroger légitimement sur les conséquences délétères des expositions aux SDHi sur la santé humaine et sur la biodiversité. Malgré la conservation de la structure de la SDH au cours de l'évolution, certains travaux suggèrent une variabilité importante du profil d'inhibition de son activité par différents SDHi selon les espèces. Toutefois, les résultats de ces études sont difficiles à comparer du fait de différences voire de lacunes méthodologiques. Les données actuellement disponibles sont donc insuffisantes pour conclure à une spécificité des SDHi pour la SDH des champignons et à leur innocuité pour les espèces non-cibles. Pour cela, il est nécessaire d'une part de produire *in vitro* des données d'IC_{50} à partir d'échantillons de nature homogène et d'autre part de générer des données expérimentales *in vivo* dans des modèles animaux, prenant en compte les caractéristiques de toxicocinétique, de toxicodynamique et de biotransformation des SDHi dans les organismes entiers.

Concernant les effets toxiques potentiels des SDHi sur différentes espèces, une série d'études sur les poissons-zèbres, dont la moitié ont été publiées par le même groupe de recherche, montrent que l'exposition aux SDHi pourrait entraîner des anomalies de développement et de nombreuses malformations ainsi que des perturbations du métabolisme, de la fonction thyroïdienne, ou de la reproduction. Ces effets suggèrent que ces fongicides pourraient être considérés, au moins chez cette espèce, comme des perturbateurs endocriniens.

Quelques études ont exploré les effets des SDHi sur les écosystèmes. Elles ont montré que, chez les abeilles, l'exposition au boscalide modifie la composition du microbiote intestinal et a un impact sur le comportement. D'autres études ont mis en évidence des effets délétères sur des organismes du sol (toxicité et effets sur le comportement chez les nématodes et lombrics) et les organismes aquatiques (toxicité chez les algues et effets tératogènes chez des amphibiens). Ces études mériteraient d'être poursuivies afin de documenter les impacts des SDHi sur la biodiversité et éventuellement sur la régulation des écosystèmes et leurs répercussions sur la santé humaine.

Les données de cancérogénicité sur les SDHi, analysées ici, proviennent exclusivement des rapports des agences sanitaires européennes qui publient les conclusions des évaluations des dossiers de demande d'autorisation de mise sur le marché élaborés par les entreprises. Selon ces conclusions, la majorité des SDHi ne présentent aucune génotoxicité. Cependant, pour la majorité des SDHi, les études chez les rongeurs montrent une augmentation de l'incidence des adénomes et des carcinomes dans différents organes : principalement le foie mais aussi la thyroïde, le poumon et l'utérus avec pour certains un dimorphisme sexuel. En dépit de ces observations, la grande

majorité des SDHi autorisés au niveau européen ne sont pas classifiés par les instances réglementaires comme des substances susceptibles ou suspectées de provoquer le cancer. Ces conclusions ont été tirées sur la base du mode d'action rapporté par des études industrielles pour rendre compte des effets cancérigènes des SDHi chez le rongeur qui implique l'activation du récepteur nucléaire CAR (*constitutive androstane receptor*). Ce mode d'action est considéré comme spécifique aux rongeurs et n'a pas été jugé pertinent pour l'être humain par les agences sanitaires. Ces problématiques concernant le mode d'action ainsi que les modèles expérimentaux utilisés font encore l'objet de débat au sein de la communauté scientifique et au sein-même des agences et il n'est pas possible d'exclure actuellement que d'autres mécanismes d'action mis en jeu dans la transformation tumorale que celui concernant le récepteur CAR soient impliqués, et pertinents pour l'être humain.

Concernant les tests réglementaires, des réflexions sont en cours au sein de l'OCDE sur l'évaluation du potentiel cancérogène des substances non reconnues comme étant génotoxiques (Jacobs et coll., 2020) telles que les SDHi. Le groupe d'experts international de l'OCDE a reconnu dans cette déclaration de consensus le besoin d'élargir l'évaluation avec des essais *in vitro/ex vivo*, selon une approche intégrative basée sur le concept des voies d'effets indésirables (*adverse outcome pathway*), qui consiste à décrire une séquence logique d'évènements liés de façon causale à différents niveaux d'organisation biologique. Certains mécanismes identifiés par l'OCDE sont pertinents pour les SDHi, dont le stress oxydant et l'épigénotoxicité, alors que d'autres mécanismes d'intérêt qui n'ont pas été retenus, pourraient inclure notamment la mitotoxicité et la transition épithélio-mésenchymateuse. Les tests visant à établir le caractère cancérogène ou non d'une substance pourraient également intégrer la notion d'impact sur la progression tumorale (promotion/métastase), le processus d'initiation criblé notamment par les tests de génotoxicité et de mutagénicité n'étant pas le seul impliqué dans la cancérogenèse. Cependant, faire des recommandations précises sur l'amélioration des essais et des modèles en toxicologie réglementaire nécessiterait d'analyser l'ensemble des processus et des essais utilisés, ce qui dépasse largement le cadre de cette expertise.

Enfin, comme pour tous les pesticides, la toxicologie réglementaire évalue les substances actives et pas les formulations. Or, pour les SDHi, certaines formulations contiennent des fongicides de la famille des strobilurines qui inhibent la respiration cellulaire au niveau du complexe III de la chaîne respiratoire et qui pourraient donc potentialiser les effets sur la fonction mitochondriale. Cela souligne l'importance de tester non seulement les substances actives mais aussi les formulations dans les études de toxicologie.

Concernant les effets chez l'être humain, il n'existe à ce jour pratiquement aucune donnée épidémiologique portant sur les effets possibles des substances actives SDHi sur la santé des agriculteurs ou de la population générale. La seule étude ayant examiné cette question, menée sur les participants de la cohorte ELFE, n'a pas montré d'association entre l'exposition au boscalide pendant la grossesse et la croissance intra-utérine. En utilisant une estimation indirecte de l'exposition aux SDHi, c'est-à-dire en considérant les tâches ou activités agricoles potentiellement exposantes aux SDHi, présents sur le marché depuis plusieurs décennies et compatible avec les délais d'apparition de pathologies (par exemple cancéreuses ou dégénératives), les rares données disponibles ne révèlent pas de signal laissant supposer un sur-risque spécifique dans ces populations agricoles. Très peu de données sont donc disponibles chez l'être humain pour évaluer le risque lié à l'utilisation des SDHi. Un renforcement de la biosurveillance humaine, l'exploitation de cohortes existantes (AGRICAN, ELFE...) à court terme et à plus long terme, la mise en place de nouvelles études épidémiologiques, pourraient permettre de mieux cerner les conséquences potentielles d'une exposition professionnelle ou non professionnelle aux SDHi sur la santé humaine.

Addenda

Mitochondrie et chaîne respiratoire

La mitochondrie est un organite dont la taille varie de 1 à 10 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large. La forme des mitochondries, leur localisation subcellulaire et leur nombre (qui peut atteindre plusieurs centaines par cellule) dépendent de la fonction et de l'activité métabolique des cellules. Les rôles de la mitochondrie sont multiples, incluant la production d'énergie sous forme d'ATP, l'homéostasie calcique, la thermogenèse, et la mort cellulaire.

L'organisation structurale de la mitochondrie est représentée dans la figure A20.1. Elle comporte deux compartiments séparés par une membrane externe et une membrane interne : la matrice et l'espace intermembranaire. La membrane interne forme des invaginations qui apparaissent sous forme de crêtes ou replis qui augmentent la surface de la membrane et dont le nombre varie selon l'activité mitochondriale (respiration cellulaire, oxydation des acides gras...). Les complexes de la chaîne respiratoire sont situés au niveau de ces crêtes.

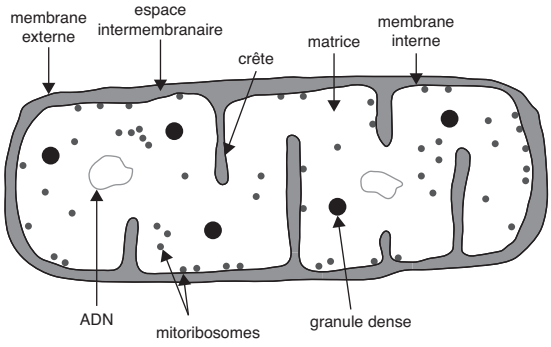


Figure A20.1 : Représentation schématique de l'organisation structurale de la mitochondrie*

* Source : http://biologie-enligne.univ-lille1.fr/biocellulaire/apprendre/chapitre10/ch10_page2.htm [consulté le 2 septembre 2020].

Parmi les fonctions mitochondriales, la respiration cellulaire tient une place prépondérante dans la production d'énergie. Elle est assurée grâce à une étroite connexion entre la glycolyse et la β-oxydation des acides gras qui se produisent dans le cytoplasme, et le cycle de Krebs dans la matrice mitochondriale.

La chaîne respiratoire, localisée dans la membrane interne mitochondriale, est composée d'une centaine d'éléments, protéiques et lipidiques, organisés en 4 complexes (I à IV) (figure A20.2). Elle est couplée avec l'ATP synthase

(parfois appelée complexe V), également localisée dans la membrane interne, qui accomplit la phosphorylation oxydative de l'ADP en ATP. La chaîne respiratoire est reliée au cycle de Krebs, qui lui fournit une partie des équivalents réduits (NADH, $FADH_2$) nécessaire à la synthèse d'ATP. Les électrons provenant du NADH et $FADH_2$ sont respectivement transmis aux complexes I et II, puis transitent par les complexes III et IV pour être enfin transmis au dioxygène, accepteur final. L'énergie ainsi libérée par le passage

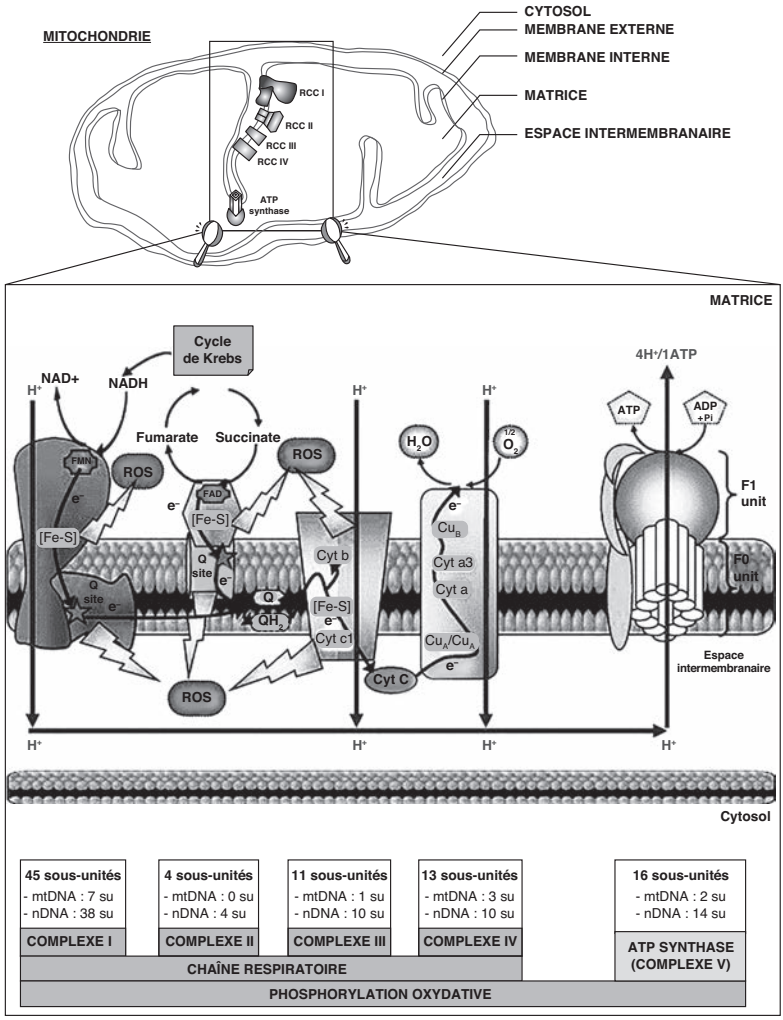


Figure A20.2 : Représentation schématique des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale et du système de phosphorylation oxydative (d'après Lemarie et Grimm, 2011)

(Figure traduite de l'anglais)

des électrons d'un complexe au suivant est utilisée pour pomper des protons (H^+) par l'intermédiaire des complexes I, III et V, depuis la matrice mitochondriale vers l'espace intermembranaire. Ce mouvement de protons crée un gradient de pH de part et d'autre de la membrane interne mitochondriale (le pH devient plus acide dans l'espace intermembranaire que dans la matrice) et engendre un potentiel de membrane ($\Delta\psi m$) à travers la membrane interne de la mitochondrie dû au déséquilibre de charges positives. La résultante de ces deux forces constitue un gradient électrochimique qui est employé par l'ATP synthase qui catalyse la conversion d'ADP + Pi en ATP.

Pathologies liées à un déficit de la chaîne respiratoire

Les maladies mitochondriales, quelles que soient leurs causes, sont toutes des pathologies liées à un déficit de la chaîne respiratoire. Elles ont pour conséquences une déplétion en ATP, une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS pour « *reactive oxygen species* »), un désordre de l'homéostasie des cations (Fe^{2+}, Ca^{2+}) et une acidose lactique. Elles peuvent survenir à tout âge de la vie, et toucher tous les organes, isolément ou en association, avec notamment des atteintes cardiaques, musculaires, ophtalmologiques, hématologiques, hépatiques, ou encore rénales. Elles ont des présentations cliniques très variées, allant d'atteintes localisées (cardiomyopathies, surdité, paragangliomes), à des syndromes multi-viscéraux (ataxie de Friedreich ; MELAS : encéphalomyopathie mitochondriale avec acidose lactique et pseudo-accidents vasculaires cérébraux ; MERRF : épilepsie myoclonique avec fibres rouges déchiquetées ; MNGIE : encéphalopathie gastro-intestinale myoneurogénique ; NARP : ataxie neurogénique avec rétinite pigmentaire) (figure A20.3).

L'atteinte des organes dépend des besoins des tissus et des cellules en ATP, métabolites, ions (Fe^{2+}, Ca^{2+}), et de la sensibilité de ces tissus et cellules au stress oxydant et à l'accumulation de certains métabolites. Ces pathologies sont particulièrement difficiles à diagnostiquer, car un même phénotype peut être causé par des mutations dans différents gènes et une mutation identique peut causer des phénotypes différents. Elles sont également difficiles à pronostiquer, ne disposant pour le moment d'aucune thérapie.

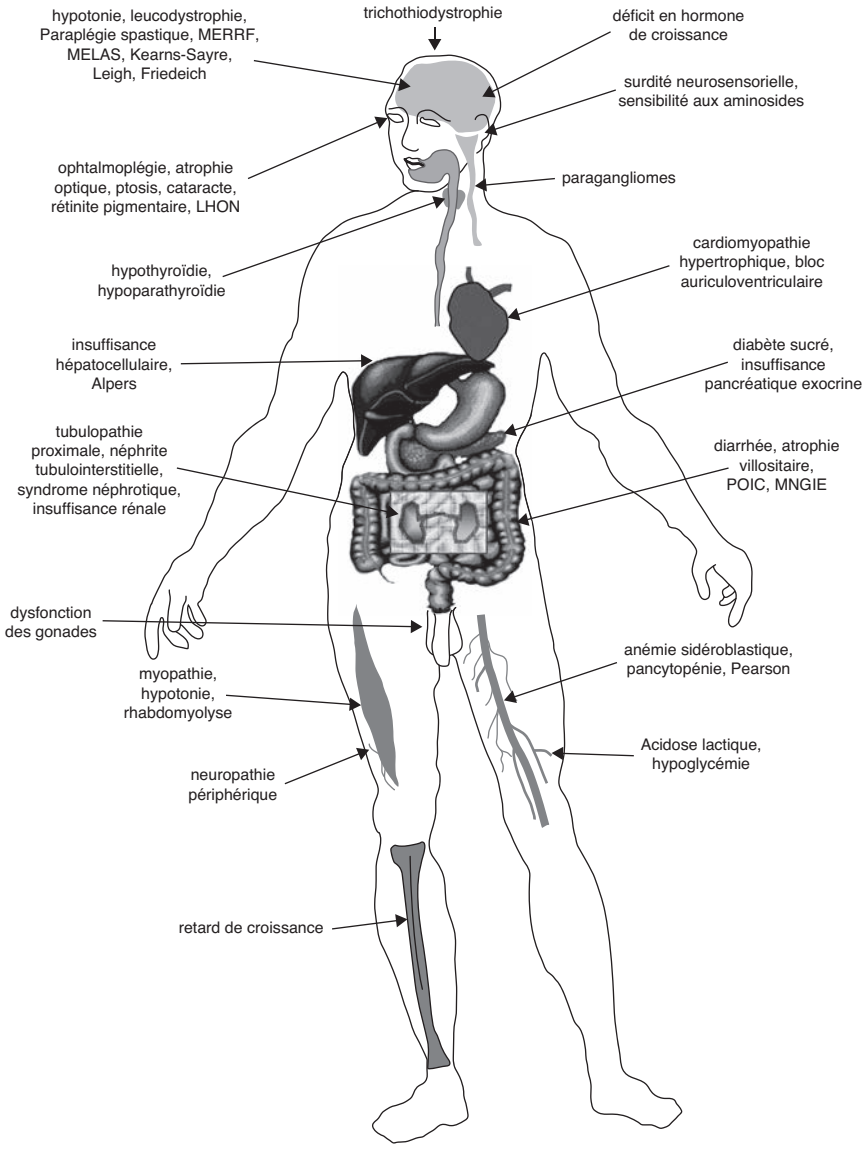


Figure A20.3 : Les maladies mitochondriales d'origine génétique peuvent toucher de nombreux organes, seuls ou en association, et donner lieu à des tableaux cliniques très variés (d'après Loublier et coll., 2009)

LHON : neuropathie optique héréditaire de Leber ; MELAS : encéphalomyopathie mitochondriale ; acidose lactique et pseudo-accidents vasculaires cérébraux ; MERRF : épilepsie myoclonique avec fibres rouges déchiquetées ; MNGIE : encéphalopathie gastro-intestinale myo- ou neurogénique ; POIC : pseudo-obstruction intestinale chronique.

Pesticides SDHi non autorisés au niveau européen

Tableau A20.I : Les pesticides SDHi non autorisés au niveau européen

Substances actives	Type de pesticide	Principaux types de traitement, cultures	Régions/pays où la SA est utilisée, date d'autorisation	Statut réglementaire européen
Cyenopyrafène	Insecticide	Arboriculture, vigne	Japon (2009)	–
Inpyrfluxame	Fongicide	Parties aériennes ; arboriculture, légumes	Japon (2020)	Demande d'autorisation en cours d'examen
Isoflucyprame	Fongicide	Céréales	Nouvelle Zélande (2019)	Demande d'autorisation en cours d'examen
Fluindapyr	Fongicide	–	–	Demande d'autorisation en cours d'examen
Furametpyr	Fongicide	Riz	Japon (1996)	Objet d'une demande d'enregistrement préalable auprès de l'Echa
Pydiflumétofène	Fongicide	Parties aériennes ; céréales, maïs, cacahuètes, pommes de terre, vigne, melon, plantes ornementales	Argentine (2016), Uruguay, Australie	Demande d'autorisation en cours d'examen
Pyflubumide	Insecticide	–	Japon (2015), Corée	–
Pyraziflumid	Fongicide	Fruits, légumes	Japon (2018), Corée	–
Thifluzamide	Fongicide	Parties aériennes ; riz, pommes de terre, maïs, cacahuètes, coton, café	1997, Amérique du Sud, Asie	L'objet d'une demande d'enregistrement préalable auprès de l'Echa

Sources : Anses, 2019 ; *Pesticide Properties DataBase* (https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/ [consulté le 14 mai 2020]), rapports Efsa et Echa (*EU Pesticide Database* : https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database [consulté le 14 mai 2020]) et les sites des entreprises agrochimiques.

Algorithmes de recherche bibliographique pour identifier des études portant sur les effets sanitaires des fongicides SDHi

SDHi et pesticides (PubMed/Scopus/WoS)

((sdhi OR succinate dehydrogenase inhibitor OR succinate deshydrogenase inhibitor) and (pesticide* OR fungicide* OR insecticide OR acaricid* OR nematicid* OR herbicid*)) NOT (resistance OR synthesis)

Nom des familles SDHi et pesticides (PubMed/Scopus/WoS)

((‘Pyridine carboxamide’ OR ‘Oxathiin carboxamide’ OR ‘Furan carboxamide’ OR ‘Pyrazol carboxamide’ OR ‘Thiazole carboxamide’ OR ‘Phenyl benzamide OR carboxamide OR benzamide’) AND (pesticide* OR fungicide* OR insecticide OR acaricid* OR nematicid* OR herbicid*)) NOT (resistance OR synthesis)

SDHi et épidémiologie (PubMed)

(sdhi OR succinate dehydrogenase inhibitor OR succinate deshydrogenase inhibitor) AND (Epidemiolog*[tw] OR Epidemiologic Studies[mh] OR "Epidemiology"[Mh] OR epidemiology[sh] OR frequenc*[tw] OR prevalenc*[tw] OR Prevalence[mh] OR incidenc*[tw] OR trends[tw] OR mortalit*[tw] OR statistic*[tw] OR "statistics and numerical data"[Sh] OR estima*[tw] OR rate[tw] OR survey[tw] OR "prospective studies"[MeSH Terms] OR prospective stud*[tw] OR "cohort studies"[MeSH Terms] OR cohort*[tw] OR "follow-up studies"[MeSH Terms] OR follow-up[tw] OR "case-control studies"[MeSH Terms] OR "case-control"[tw] OR "Retrospective studies"[MeSH Terms] OR Retrospective stud*[tw] OR "longitudinal studies"[MeSH Terms] OR longitudinal[tw] OR "Cross-Sectional studies"[MeSH Terms] OR cross-sectional stud*[tw] OR "pilot projects"[MeSH Terms] OR pilot project*[tw] OR pilot stud*[tw] OR "multicenter study"[Publication Type] OR "Meta-Analysis"[Publication Type] OR "risk factors"[MeSH Terms] OR risk factor*[tw] OR associated factor*[tw] OR predict*[tw])

Nom des familles SDHi et épidémiologie (PubMed)

('Pyridine carboxamide' OR 'Oxathiin carboxamide' OR 'Furan carboxamide' OR 'Pyrazol carboxamide' OR 'Thiazole carboxamide' OR 'Phenyl benzamide') AND (Epidemiolog*[tw] OR Epidemiologic Studies[mh] OR "Epidemiology"[Mh] OR epidemiology[sh] OR frequenc*[tw] OR prevalenc*[tw] OR Prevalence[mh] OR incidenc*[tw] OR trends[tw] OR mortalit*[tw] OR statistic*[tw] OR "statistics and numerical data"[Sh] OR estima*[tw] OR rate[tw] OR survey[tw] OR "prospective studies"[MeSH Terms] OR prospective stud*[tw] OR "cohort studies"[MeSH Terms] OR cohort*[tw] OR "follow-up studies"[MeSH Terms] OR follow-up[tw] OR "case-control studies"[MeSH Terms] OR "case-control"[tw] OR "Retrospective studies"[MeSH Terms] OR Retrospective stud*[tw] OR "longitudinal studies"[MeSH Terms] OR longitudinal[tw] OR "Cross-Sectional studies"[MeSH Terms] OR cross-sectional stud*[tw] OR "pilot projects"[MeSH Terms] OR pilot project*[tw] OR pilot stud*[tw] OR "multicenter study"[Publication Type] OR "Meta-Analysis"[Publication Type] OR "risk factors"[MeSH Terms] OR risk factor*[tw] OR associated factor*[tw] OR predict*[tw])

Nom des substances actives SDHi*[116] *et épidémiologie (PubMed)

(Benzovindiflupyr OR Solatenol OR Bixafen OR Boscalid OR Nicobifen OR Pristine OR Carboxin OR Fluopyram OR Flutolanil OR Fluxapyroxad OR Isofetamid OR Penflufen OR Penthiopyrad OR Sedaxane OR Isopyrazam OR Pydiflumetofen OR Fenfuram OR Mepronil) AND (Epidemiolog*[tw] OR Epidemiologic Studies[mh] OR "Epidemiology"[Mh] OR epidemiology[sh] OR frequenc*[tw] OR prevalenc*[tw] OR Prevalence[mh] OR incidenc*[tw] OR trends[tw] OR mortalit*[tw] OR statistic*[tw] OR "statistics and numerical data"[Sh] OR estima*[tw] OR rate[tw] OR survey[tw] OR "prospective studies"[MeSH Terms] OR prospective stud*[tw] OR "cohort studies"[MeSH Terms] OR cohort*[tw] OR "follow-up studies"[MeSH Terms] OR follow-up[tw] OR "case-control studies"[MeSH Terms] OR "case-control"[tw] OR "Retrospective studies"[MeSH Terms] OR Retrospective stud*[tw] OR "longitudinal studies"[MeSH Terms] OR longitudinal[tw] OR "Cross-Sectional studies"[MeSH Terms] OR cross-sectional stud*[tw] OR "pilot projects"[MeSH Terms] OR pilot project*[tw] OR pilot stud*[tw] OR "multicenter study"[Publication Type] OR "Meta-Analysis"[Publication Type] OR "risk factors"[MeSH Terms] OR risk factor*[tw] OR associated factor*[tw] OR predict*[tw])

SDHi et exposition des agriculteurs (PubMed/Scopus/WoS)

(sdhi OR succinate dehydrogenase inhibitor OR succinate deshydrogenase inhibitor) AND (farm* or worker*)

Traitement des semences et épidémiologie (PubMed)

Treat* seed AND (farmer* or agricultural practice* or personal exposure or farm work or worker exposure) AND (Epidemiolog*[tw] OR Epidemiologic Studies[mh] OR "Epidemiology"[Mh] OR epidemiology[sh] OR frequenc*[tw] OR prevalenc*[tw] OR Prevalence[mh] OR incidenc*[tw] OR trends[tw] OR mortalit*[tw] OR statistic*[tw] OR "statistics and numerical data"[Sh] OR estima*[tw] OR rate[tw] OR survey[tw] OR "prospective studies"[MeSH Terms] OR prospective stud*[tw] OR "cohort studies"[MeSH Terms] OR cohort*[tw] OR "follow-up studies"[MeSH Terms] OR follow-up[tw] OR "case-control studies"[MeSH Terms] OR "case-control"[tw] OR "Retrospective studies"[MeSH Terms] OR Retrospective stud*[tw] OR "longitudinal studies"[MeSH Terms] OR longitudinal[tw] OR "Cross-Sectional studies"[MeSH Terms] OR cross-sectional stud*[tw] OR "pilot

116. FRAC classe 7 ; https://www.frac.info/knowledge-database/downloads [consulté le 12 mai 2020] et IRAC classe 25 ; https://irac-online.org/modes-of-action/ [consulté le 16 juin 2020].

projects"[MeSH Terms] OR pilot project*[tw] OR pilot stud*[tw] OR "multicenter study"[Publication Type] OR "Meta-Analysis"[Publication Type] OR "risk factors"[MeSH Terms] OR risk factor*[tw] OR associated factor*[tw] OR predict*[tw])

Traitement des semences et exposition des agriculteurs (PubMed)

Treat* seed AND (farmer* OR agricultural practice* OR personal exposure OR farm work OR worker exposure) AND (pesticide* OR fungicide* OR insecticide OR acaricid* OR nematicid* OR herbicid*)

Exposition des agriculteurs lors du traitement des pommes de terre (PubMed/Scopus/WoS)

potato* AND (farm* or worker*) AND exposure

Références

- Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

Ackrell BA. Progress in understanding structure-function relationships in respiratory chain complex II. *FEBS Lett* 2000 ; 466 : 1-5.

Afssa. *Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale*. Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2009 : 308 p., https://www.anses.fr/en/system/files/RCCP-Ra-Mycotoxines2009.pdf

Akyil D, Ozkara A, Erdogmus SF, *et al*. Evaluation of cytotoxic and genotoxic effects of Benodanil by using Allium and Micronucleus assays. *Drug Chem Toxicol* 2016 ; 39 : 35-40.

Alston CL, Davison JE, Meloni F, *et al*. Recessive germline SDHA and SDHB mutations causing leukodystrophy and isolated mitochondrial complex II deficiency. *J Med Genet* 2012 ; 49 : 569-77.

Alves PR, Cardoso EJ, Martines AM, *et al*. Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. *Chemosphere* 2013 ; 90 : 2674-82.

Amar L, Baudin E, Burnichon N, *et al*. Succinate dehydrogenase B gene mutations predict survival in patients with malignant pheochromocytomas or paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2007 ; 92 : 3822-8.

Andrews KA, Ascher DB, Pires DEV, *et al*. Tumour risks and genotype-phenotype correlations associated with germline variants in succinate dehydrogenase subunit genes SDHB, SDHC and SDHD. *J Med Genet* 2018 ; 55 : 384-94.

deshydrogénase (SDHI). Rapport d'expertise collective. "GECU SDHI". Anses. Paris, 2019 : 1-103, consulté le 13/01/20 : https://www.anses.fr/fr/system/files/PHYTO2018SA0113Ra.pdf

Artz DR, Pitts-Singer TL. Effects of fungicide and adjuvant sprays on nesting behavior in two managed solitary bees, Osmia lignaria and Megachile rotundata. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0135688.

Aspuria PP, Lunt SY, Väremo L, *et al.* Succinate dehydrogenase inhibition leads to epithelial-mesenchymal transition and reprogrammed carbon metabolism. *Cancer Metab* 2014 ; 2 : 21.

Aubertot JN, Barbier JM, Carpentier A, *et al. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux : Expertise scientifique collective, synthèse du rapport.* France : INRA et Cemagref, 2005.

Battilani P, Toscano P, van der Fels-Klerx HJ, *et al.* Aflatoxin B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 24328.

Bausch B, Schiavi F, Ni Y, *et al.* Clinical characterization of the pheochromocytoma and paraganglioma susceptibility genes SDHA, TMEM127, MAX, and SDHAF2 for gene-informed prevention. *JAMA Oncol* 2017 ; 3 : 1204-12.

Baysal BE, Ferrell RE, Willett-Brozick JE, *et al.* Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science* 2000 ; 287 : 848-51.

Bénit P, Kahn A, Chretien D, *et al.* Evolutionarily conserved susceptibility of the mitochondrial respiratory chain to SDHI pesticides and its consequence on the impact of SDHIs on human cultured cells. *PLoS One* 2019 : e0224132.

Bénit P, Bortoli S, Chrétien D, *et al.* Pathologies liées aux déficits du cycle de Krebs. *Rev Francoph Lab* 2018 ; 5947 : 1.

Béranger R, Hardy EM, Binter A-C, *et al.* Multiple pesticides in mothers' hair samples and children's measurements at birth: Results from the French national birth cohort (ELFE). *Int J Hyg Environ Health* 2020 ; 223 : 22-33.

Béranger R, Hardy EM, Dexet C, *et al.* Multiple pesticide analysis in hair samples of pregnant French women: Results from the ELFE national birth cohort. *Environ Int* 2018 ; 120 : 43-53.

Bernaudin M, Nedelec A-S, Divoux D, *et al.* Normobaric hypoxia induces tolerance to focal permanent cerebral ischemia in association with an increased expression of hypoxia-inducible factor-1 and its target genes, erythropoietin and VEGF, in the adult mouse brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002 ; 22 : 393-403.

Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, *et al.* Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nat Neurosci* 2000 ; 3 : 1301-6.

Bezawork-Geleta A, Rohlena J, Dong L, *et al.* Mitochondrial complex II: at the crossroads. *Trends Biochem Sci* 2017 ; 42 : 312-25.

Bony S, Gillet C, Bouchez A, *et al.* Genotoxic pressure of vineyard pesticides in fish: field and mesocosm surveys. *Aquat Toxicol* 2008 ; 89 : 197-203.

Boobis AR, Cohen SM, Dellarco V, *et al.* IPCS framework for analyzing the relevance of a cancer mode of action for humans. *Crit Rev Toxicol* 2006 ; 36 : 781-92. •

Botias C, David A, Hill EM, *et al.* Quantifying exposure of wild bumblebees to mixtures of agrochemicals in agricultural and urban landscapes. *Environ Pollut* 2017 ; 222 : 73-82.

Boulanger M, Tual S, Lemarchand C, *et al.* Agricultural exposure and risk of bladder cancer in the AGRIculture and CANcer cohort. *Int Arch Occup Environ Health* 2017 ; 90 : 169-78.

Brenet A, Hassan-Abdi R, Soussi-Yanicostas N. Bixafen, a succinate dehydrogenase inhibitor fungicide, causes microcephaly and motor neuron axon defects during development. *Chemosphere* 2020 : 128781.

Brière J-J, Favier J, El Ghouzzi V, *et al.* Succinate dehydrogenase deficiency in human. *Cell Mol Life Sci* 2005 ; 62 : 2317-24.

Burnichon N, Buffet A, Parfait B, *et al.* Somatic NF1 inactivation is a frequent event in sporadic pheochromocytoma. *Hum Mol Genet* 2012 ; 21 : 5397-405.

Burnichon N, Brière J-J, Libé R, *et al.* SDHA is a tumor suppressor gene causing paraganglioma. *Hum Mol Genet* 2010 ; 19 : 3011-20.

C.E. Review report for the active substance Boscalid : Commission européenne, 2008 : 27 p. [consulté le 16/02/21 :
https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/active-substances/?event=as.details&as_id=472

Calió A, Grignon DJ, Stohr BA, *et al.* Renal cell carcinoma with TFE3 translocation and succinate dehydrogenase B mutation. *Mod Pathol* 2017 ; 30 : 407-15.

Campbell JB, Nath R, Gadau J, *et al.* The fungicide Pristine(R) inhibits mitochondrial function in vitro but not flight metabolic rates in honey bees. *J Insect Physiol* 2016 ; 86 : 11-6.

Casey RT, ten Hoopen R, Ochoa E, *et al.* SDHC epi-mutation testing in gastrointestinal stromal tumours and related tumours in clinical practice. *Sci Rep* 2019 ; 9 : 10244.

Castro-Vega LJ, Buffet A, De Cubas AA, *et al.* Germline mutations in FH confer predisposition to malignant pheochromocytomas and paragangliomas. *Hum Mol Gen* 2014 ; 23 : 2440-6.

Cecchini G. Function and structure of complex II of the respiratory chain. *Annu Rev Biochem* 2003 ; 72 : 77-109.

Cervera AM, Bayley J-P, Devilee P, *et al.* Inhibition of succinate dehydrogenase dysregulates histone modification in mammalian cells. *Mol Cancer* 2009 ; 8 : 89.

Cochemé HM, Murphy MP. Complex I is the major site of mitochondrial superoxide production by paraquat. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 1786-98.

Commissariat général au développement durable. *Les pesticides dans les cours d'eau français en 2013 :* Commissariat général au développement durable, 2015 : 12 p., consulté le 13/01/20 :
https://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/sites/default/files/2018-10/chiffres-stats697-pesticides-dans-cours-deau2013-novembre2015.pdf

Costello S, Cockburn M, Bronstein J, *et al*. Parkinson's disease and residential exposure to maneb and paraquat from agricultural applications in the central valley of California. *Am J Epidemiol* 2009 ; 169 : 919-26.

Courage C, Jackson CB, Hahn D, *et al*. SDHA mutation with dominant transmission results in complex II deficiency with ocular, cardiac, and neurologic involvement. *Am J Med Genet A* 2017 ; 173 : 225-30.

Crona J, Delgado Verdugo A, Maharjan R, *et al*. Somatic mutations in H-RAS in sporadic pheochromocytoma and paraganglioma identified by exome sequencing. *J Clin Endocrinol Metab* 2013 ; 98 : E1266-1271.

Dahia PLM. Pheochromocytoma and paraganglioma pathogenesis: learning from genetic heterogeneity. *Nat Rev Cancer* 2014 ; 14 : 108-19.

Daniele G, Giroud B, Jabot C, *et al*. Exposure assessment of honeybees through study of hive matrices: analysis of selected pesticide residues in honeybees, beebread, and beeswax from French beehives by LC-MS/MS. *Environ Sci Pollut Res Int* 2018 ; 25 : 6145-53.

David A, Botías C, Abdul-Sada A, *et al*. Widespread contamination of wildflower and bee-collected pollen with complex mixtures of neonicotinoids and fungicides commonly applied to crops. *Environ Int* 2016 ; 88 : 169-78.

DeGrandi-Hoffman G, Chen Y, Watkins Dejong E, *et al*. Effects of oral exposure to fungicides on honey bee nutrition and virus levels. *J Econ Entomol* 2015 ; 108 : 2518-28.

Domico LM, Zeevalk GD, Bernard LP, *et al*. Acute neurotoxic effects of mancozeb and maneb in mesencephalic neuronal cultures are associated with mitochondrial dysfunction. *Neurotoxicology* 2006 ; 27 : 816-25.

Dongre A, Weinberg RA. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2019 ; 20 : 69-84.

Du B, Shim JS. Targeting epithelial-mesenchymal transition (EMT) to overcome drug resistance in cancer. *Molecules* 2016 ; 21 : 964.

Dubard Gault M, Mandelker D, DeLair D, *et al*. Germline SDHA mutations in children and adults with cancer. *Cold Spring Harb Mol Case Stud* 2018 ; 4 : a002584.

Dwight T, Mann K, Benn DE, *et al*. Familial SDHA mutation associated with pituitary adenoma and pheochromocytoma/paraganglioma. *J Clin Endocrinol Metab* 2013a ; 98 : E1103-8.

Dwight T, Benn DE, Clarkson A, *et al*. Loss of SDHA expression identifies SDHA mutations in succinate dehydrogenase-deficient gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 2013b ; 37 : 226-33.

Ebadi M, Govitrapong P, Sharma S, *et al*. Ubiquinone (coenzyme q10) and mitochondria in oxidative stress of Parkinson's disease. *Biol Signals Recept* 2001 ; 10 : 224-53.

Echa. *CLH report for isoflucypram:* European Chemicals Agency (ECHA), 2018 : 92 p., https://echa.europa.eu/documents/10162/fffcc1f5-d105-1cf1-6ea1-72d9efee853d

Efsa. The 2018 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J* 2020 ; 18.

Efsa. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance penflufen. *EFSA J* 2016 ; 14 : 4605.

Efsa. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance benzovindiflupyr. *EFSA J* 2015 ; 13 : 4043.

Efsa. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fluopyram. *EFSA J* 2013 ; 11 : 3052.

Eichner LJ, Perry M-C, Dufour CR, *et al.* miR-378 (*) mediates metabolic shift in breast cancer cells via the PGC-1β/ERRγ transcriptional pathway. *Cell Metab* 2010 ; 12 : 352-61.

Elcombe CR, Peffer RC, Wolf DC, *et al.* Mode of action and human relevance analysis for nuclear receptor-mediated liver toxicity: A case study with phenobarbital as a model constitutive androstane receptor (CAR) activator. *Crit Rev Toxicol* 2014 ; 44 : 64-82. •

Elskus AA, Smalling KL, Hladik ML, *et al.* Effects of two fungicide formulations on microbial and macroinvertebrate leaf decomposition under laboratory conditions. *Environ Toxicol Chem* 2016 ; 35 : 2834-44.

EPA. *Inpyrfluxam: Ecological hazard comparison in support of the registration decision*. Washington, DC : United States Environmental Protection Agency, 2020 : 5 p., https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPP-2018-0038-0020

EPA. *Environmental fate and ecological risk assessment for boscalid. New uses on alfalfa and citrus (group 10)*. Washington (DC) : US Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, Environmental Fate and Effects Division, 2010 : 162 p. : https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/cleared_reviews/csr_PC-128008_19-Feb-10_a.pdf

Esteve-Turrillas FA, Agulló C, Abad-Somovilla A, *et al.* Fungicide multiresidue monitoring in international wines by immunoassays. *Food Chem* 2016 ; 196 : 1279-86.

Favier J, Buffet A, Gimenez-Roqueplo A-P. HIF2A mutations in paraganglioma with polycythemia. *N Engl J Med* 2012 ; 367 : 2161 ; author reply 2161-2162.

Felter SP, Foreman JE, Boobis A, *et al.* Human relevance of rodent liver tumors: Key insights from a Toxicology Forum workshop on nongenotoxic modes of action. *Regul Toxicol Pharmacol* 2018 ; 92 : 1-7. •

FRAC. *FRAC Code List 2020: Fungal control agents by cross resistance pattern and mode of action*. FRAC, 2020, consulté le 11/02/2021 : https://www.frac.info/knowledge-database/downloads

Fuhrmann DC, Wittig I, Brüne B. TMEM126B deficiency reduces mitochondrial SDH oxidation by LPS, attenuating HIF-1α stabilization and IL-1β expression. *Redox Biol* 2019 ; 20 : 204-16.

Galadari S, Rahman A, Pallichankandy S, *et al*. Reactive oxygen species and cancer paradox: To promote or to suppress? *Free Radic Biol Med* 2017 ; 104 : 144-64.

Gandar A, Laffaille P, Canlet C, *et al*. Adaptive response under multiple stress exposure in fish: From the molecular to individual level. *Chemosphere* 2017 ; 188 : 60-72.

Giancotti FG. Mechanisms governing metastatic dormancy and reactivation. *Cell* 2013 ; 155 : 750-64.

Gill AJ. Succinate dehydrogenase (SDH)-deficient neoplasia. *Histopathology* 2018 ; 72 : 106-16.

Gimenez-Roqueplo A-P. New advances in the genetics of pheochromocytoma and paraganglioma syndromes. *Ann N Y Acad Sci* 2006 ; 1073 : 112-21.

Gimenez-Roqueplo A-P, Favier J, Rustin P, *et al*. Mutations in the SDHB gene are associated with extra-adrenal and/or malignant phaeochromocytomas. *Cancer Res* 2003 ; 63 : 5615-21.

Goffrini P, Ercolino T, Panizza E, *et al*. Functional study in a yeast model of a novel succinate dehydrogenase subunit B gene germline missense mutation (C191Y) diagnosed in a patient affected by a glomus tumor. *Hum Mol Gen* 2009 ; 18 : 1860-8.

Grey WE, Marthre DE, Rogers SJ. Potential exposure of commercial seed-treating applicators to the pesticides carboxin-thiram and lindane. *Bull Environ Contam Toxicol* 1983 ; 31 : 244-50.

Guo J, Lemire BD. The ubiquinone-binding site of the Saccharomyces cerevisiae succinate-ubiquinone oxidoreductase is a source of superoxide. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 47629-35.

Guzy RD, Sharma B, Bell E, *et al*. Loss of the SdhB, but Not the SdhA, subunit of complex II triggers reactive oxygen species-dependent hypoxia-inducible factor activation and tumorigenesis. *Mol Cell Biol* 2008 ; 28 : 718-31.

Habano W, Sugai T, Nakamura S-I, *et al*. Reduced expression and loss of heterozygosity of the SDHD gene in colorectal and gastric cancer. *Oncol Rep* 2003 ; 10 : 1375-80.

Her YF, Nelson-Holte M, Maher LJ. Oxygen concentration controls epigenetic effects in models of familial paraganglioma. *PLoS One* 2015 ; 10 : e0127471.

Horsefield R, Yankovskaya V, Sexton G, *et al*. Structural and computational analysis of the quinone-binding site of complex II (succinate-ubiquinone oxidoreductase): a mechanism of electron transfer and proton conduction during ubiquinone reduction. *J Biol Chem* 2006 ; 281 : 7309-16. •

Huang S, Millar AH. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme. *Curr Opin Plant Biol* 2013 ; 16 : 344-9.

Hurley PM. Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents. *Environ Health Perspect* 1998 ; 106 : 437-45.

Hyland C, Bradman A, Gerona R, *et al*. Organic diet intervention significantly reduces urinary pesticide levels in US children and adults. *Environ Res* 2019 ; 171 : 568-75.

Inaoka DK, Shiba T, Sato D, *et al*. Structural insights into the molecular design of flutolanil derivatives targeted for fumarate respiration of parasite mitochondria. *Int J Mol Sci* 2015 ; 16 : 15287-308.

Jacobs MN, Colacci A, Corvi R, *et al*. Chemical carcinogen safety testing: OECD expert group international consensus on the development of an integrated approach for the testing and assessment of chemical non-genotoxic carcinogens. *Arch Toxicol* 2020 ; 94 : 2899-923. •

JMPR. *Pesticide residues in food 2009. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group*. Rome, Italy : Fao, 2009 : 434 p., consulté le 15/06/20 : http://www.fao.org/3/a-i1277e.pdf

Karlsson AS, Weihermüller L, Tappe W, *et al*. Field scale boscalid residues and dissipation half-life estimation in a sandy soil. *Chemosphere* 2016 ; 145 : 163-73.

Kelly L, Bryan K, Kim SY, *et al*. Post-transcriptional dysregulation by miRNAs is implicated in the pathogenesis of gastrointestinal stromal tumor [GIST]. *PLoS One* 2013 ; 8 : e64102.

Kikutake K, Furuya T, Hasebe M, *et al*. Development of a novel fungicide, pyraziflumid. *J Pestic Sci* 2020 ; 45 : 184-90. •

Killian JK, Kim SY, Miettinen M, *et al*. Succinate dehydrogenase mutation underlies global epigenomic divergence in gastrointestinal stromal tumor. *Cancer Discov* 2013 ; 3 : 648-57.

Kugathas S, Audouze K, Ermler S, *et al*. Effects of common pesticides on prostaglandin D2 (PGD2) inhibition in SC5 mouse Sertoli cells, evidence of binding at the COX-2 active site, and implications for endocrine disruption. *Environ Health Perspect* 2016 ; 124 : 452-9.

Lalève A, Gamet S, Walker A-S, *et al*. Site-directed mutagenesis of the P225, N230 and H272 residues of succinate dehydrogenase subunit B from Botrytis cinerea highlights different roles in enzyme activity and inhibitor binding. *Environ Microbiol* 2014 ; 16 : 2253-66. •

Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014 ; 15 : 178-96.

Laukka T, Mariani CJ, Ihantola T, *et al*. Fumarate and succinate regulate expression of hypoxia-inducible genes via TET enzymes. *J Biol Chem* 2016 ; 291 : 4256-65.

Lee D, Kondo H, Kuwayama Y, *et al*. Total synthesis of 4-epi-atpenin A5 as a potent nematode complex II inhibitor. *Tetrahedron* 2019 ; 75 : 3178-85.

Lee HJ, Ryu D. Worldwide occurrence of mycotoxins in cereals and cereal-derived food products: public health perspectives of their co-occurrence. *J Agric Food Chem* 2017 ; 65 : 7034-51.

Lee MR, Mantel C, Lee SA, *et al*. MiR-31/SDHA Axis regulates reprogramming efficiency through mitochondrial metabolism. *Stem Cell Reports* 2016 ; 7 : 1-10.

Lemarchand C, Tual S, Boulanger M, *et al*. Prostate cancer risk among French farmers in the AGRICAN cohort. *Scand J Work Environ Health* 2016 ; 42 : 144-52.

Lemarie A, Grimm S. Mitochondrial respiratory chain complexes: apoptosis sensors mutated in cancer? *Oncogene* 2011 ; 30 : 3985-4003.

Lemarie A, Huc L, Pazarentzos E, *et al*. Specific disintegration of complex II succinate:ubiquinone oxidoreductase links pH changes to oxidative stress for apoptosis induction. *Cell Death Differ* 2011 ; 18 : 338-49.

Lemos RS, Fernandes AS, Pereira MM, *et al*. Quinol: fumarate oxidoreductases and succinate: quinone oxidoreductases: phylogenetic relationships, metal centres and membrane attachment. *Biochim Biophys Acta* 2002 ; 1553 : 158-70.

Lentola A, David A, Abdul-Sada A, *et al*. Ornamental plants on sale to the public are a significant source of pesticide residues with implications for the health of pollinating insects. *Environ Pollut* 2017 ; 228 : 297-304.

Lepoutre-Lussey C, Thibault C, Buffet A, *et al*. From Nf1 to Sdhb knockout: Successes and failures in the quest for animal models of pheochromocytoma. *Mol Cell Endocrinol* 2016 ; 421 : 40-8.

Lesmes-Fabian C, Binder CR. Pesticide flow analysis to assess human exposure in greenhouse flower production in Colombia. *Int J Environ Res Public Health* 2013 ; 10 : 1168-85.

Letouzé E, Martinelli C, Loriot C, *et al*. SDH mutations establish a hypermethylator phenotype in paraganglioma. *Cancer Cell* 2013 ; 23 : 739-52.

Levitas A, Muhammad E, Harel G, *et al*. Familial neonatal isolated cardiomyopathy caused by a mutation in the flavoprotein subunit of succinate dehydrogenase. *Eur J Hum Genet* 2010 ; 18 : 1160-5.

Liao L-H, Wu W-Y, Dad A, *et al*. Fungicide suppression of flight performance in the honeybee (Apis mellifera) and its amelioration by quercetin. *Proc Biol Sci* 2019 ; 286 : 20192041.

Li J, Liang N, Long X, *et al*. SDHC-related deficiency of SDH complex activity promotes growth and metastasis of hepatocellular carcinoma via ROS/NFβB signaling. *Cancer Lett* 2019 ; 461 : 44-55.

Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* 2006 ; 443 : 787-95.

Liou G-Y, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res* 2010 ; 44 : 479-96.

Li W, Yuan M, Wu Y, *et al*. Bixafen exposure induces developmental toxicity in zebrafish (Danio rerio) embryos. *Environ Res* 2020a ; 189 : 109923.

Li W, Wu Y, Yuan M, *et al*. Fluxapyroxad induces developmental delay in zebrafish (Danio rerio). *Chemosphere* 2020b ; 256 : 127037.

Loriot C, Domingues M, Berger A, *et al*. Deciphering the molecular basis of invasiveness in Sdhb-deficient cells. *Oncotarget* 2015 ; 6 : 32955-65.

Loriot C, Burnichon N, Gadessaud N, *et al*. Epithelial to mesenchymal transition is activated in metastatic pheochromocytomas and paragangliomas caused by SDHB gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 ; 97 : E954-962.

Loublier S, Schiff M, Bénit P, *et al*. Les maladies mitochondriales : une médecine à part ? *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 2009 ; 24 : 240-53.

Lucas JA, Hawkins NJ, Fraaije BA. The evolution of fungicide resistance. *Adv Appl Microbiol* 2015 ; 90 : 29-92.

Lussey-Lepoutre C, Buffet A, Gimenez-Roqueplo A-P, *et al*. Mitochondrial deficiencies in the predisposition to paraganglioma. *Metabolites* 2017 ; 7 : 17.

Malinoc A, Sullivan M, Wiech T, *et al*. Biallelic inactivation of the SDHC gene in renal carcinoma associated with paraganglioma syndrome type 3. *Endocr Relat Cancer* 2012 ; 19 : 283-90.

Mathew MD, Mathew ND, Miller A, *et al*. Using C. elegans forward and reverse genetics to identify new compounds with anthelmintic activity. *PLoS Negl Trop Dis* 2016 ; 10 : e0005058.

Ma YY, Wu TF, Liu YP, *et al*. Two compound frame-shift mutations in succinate dehydrogenase gene of a Chinese boy with encephalopathy. *Brain Dev* 2014 ; 36 : 394-8.

McDonald OG, Wu H, Timp W, *et al*. Genome-scale epigenetic reprogramming during epithelial-to-mesenchymal transition. *Nat Struct Mol Biol* 2011 ; 18 : 867-74.

Meek ME, Boobis A, Cote I, *et al*. New developments in the evolution and application of the WHO/IPCS framework on mode of action/species concordance analysis. *J Appl Toxicol* 2014 ; 34 : 1-18.

Merlo A, Bernardo-Castiñeira C, Sáenz-de-Santa-María I, *et al*. Role of VHL, HIF1A and SDH on the expression of miR-210: Implications for tumoral pseudo-hypoxic fate. *Oncotarget* 2017 ; 8 : 6700-17.

Miettinen M, Lasota J. Succinate dehydrogenase deficient gastrointestinal stromal tumors (GISTs) - a review. *Int J Biochem Cell Biol* 2014 ; 53 : 514-9.

Miyadera H, Shiomi K, Ui H, *et al*. Atpenins, potent and specific inhibitors of mitochondrial complex II (succinate-ubiquinone oxidoreductase). *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 473-7.

Moosavi B, Berry EA, Zhu X-L, *et al*. The assembly of succinate dehydrogenase: a key enzyme in bioenergetics. *Cell Mol Life Sci* 2019 ; 76 : 4023-42.

Myung K, Klittich CJR. Can agricultural fungicides accelerate the discovery of human antifungal drugs? *Drug Discov Today* 2015 ; 20 : 7-10.

Nakano M, Yasokawa N, Suwa A, *et al*. Mode of action of novel acaricide pyflubumide: Effects on the mitochondrial respiratory chain. *J Pestic Sci* 2015 ; 40 : 19-24. •

Nath K, Guo L, Nancolas B, *et al.* Mechanism of antineoplastic activity of lonidamine. *Biochim Biophys Acta* 2016 ; 1866 : 151-62.

Navarro A, Bández MJ, Gómez C, *et al.* Effects of rotenone and pyridaben on complex I electron transfer and on mitochondrial nitric oxide synthase functional activity. *J Bioenerg Biomembr* 2010 ; 42 : 405-12.

Neumann HPH, Pawlu C, Peczkowska M, *et al.* Distinct clinical features of paraganglioma syndromes associated with SDHB and SDHD gene mutations. *JAMA* 2004 ; 292 : 943-51.

Niedzielska E, Smaga I, Gawlik M, *et al.* Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Mol Neurobiol* 2016 ; 53 : 4094-125.

Ni Y, Seballos S, Ganapathi S, *et al.* Germline and somatic SDHx alterations in apparently sporadic differentiated thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2015 ; 22 : 121-30.

Nougadère A, Sirot V, Cravedi J-P, *et al.* Dietary exposure to pesticide residues and associated health risks in infants and young children - Results of the French infant total diet study. *Environ Int* 2020 ; 137 : 105529.

Nougadère A, Sirot V, Kadar A, *et al.* Total diet study on pesticide residues in France: levels in food as consumed and chronic dietary risk to consumers. *Environ Int* 2012 ; 45 : 135-50.

Nowicki S, Gottlieb E. Oncometabolites: tailoring our genes. *FEBS J* 2015 ; 282 : 2796-805.

Ohlenbusch A, Edvardson S, Skorpen J, *et al.* Leukoencephalopathy with accumulated succinate is indicative of SDHAF1 related complex II deficiency. *Orphanet J Rare Dis* 2012 ; 7 : 69.

Oka Y, Saroya Y. Effect of fluensulfone and fluopyram on the mobility and infection of second-stage juveniles of Meloidogyne incognita and M. javanica. *Pest Manag Sci* 2019 ; 75 : 2095-106.

Oudijk L, de Krijger RR, Rapa I, *et al.* H-RAS mutations are restricted to sporadic pheochromocytomas lacking specific clinical or pathological features: data from a multi-institutional series. *J Clin Endocrinol Metab* 2014 ; 99 : E1376-1380.

Paranagama MP, Kita K. Differential effect of atpenin A5 on ROS production from wild- type mitochondrial complex II in human cancer cells and normal cells. *Mitochondrial Diseases* 2017 : 87.

Parfait B, Chrétien D, Rötig A, *et al.* Compound heterozygous mutations in the flavoprotein gene of the respiratory chain complex II in a patient with Leigh syndrome. *Hum Genet* 2000 ; 106 : 236-43.

Paris L, Peghaire E, Moné A, *et al.* Honeybee gut microbiota dysbiosis in pesticide/parasite co-exposures is mainly induced by Nosema ceranae. *J Invertebr Pathol* 2020 ; 172 : 107348.

Peffer RC, Cowie DE, Currie RA, *et al.* Sedaxane-use of nuclear receptor transactivation assays, toxicogenomics, and toxicokinetics as part of a mode of action framework for rodent liver tumors. *Toxicol Sci* 2018 ; 162 : 582-98. •

Peters JP, Her YF, Maher LJ. Modeling dioxygenase enzyme kinetics in familial paraganglioma. *Biol Open* 2015 ; 4 : 1281-9.

Piel C, Pouchieu C, Tual S, *et al.* Central nervous system tumors and agricultural exposures in the prospective cohort AGRICAN. *Int J Cancer* 2017 ; 141 : 1771-82.

Piruat JI, Millán-Uclés A. Genetically modeled mice with mutations in mitochondrial metabolic enzymes for the study of cancer. *Front Oncol* 2014 ; 4 : 200.

Plummer SM, Wright J, Currie RA. Dose-dependent effects on rat liver miRNAs 200a/b and 429: potential early biomarkers of liver carcinogenesis. *Toxicol Rep* 2018 ; 5 : 309-13. •

Pollard PJ, Brière JJ, Alam NA, *et al.* Accumulation of Krebs cycle intermediates and over-expression of HIF1alpha in tumours which result from germline FH and SDH mutations. *Hum Mol Gen* 2005 ; 14 : 2231-9.

Powers JF, Cochran B, Baleja JD, *et al.* A xenograft and cell line model of SDH-deficient pheochromocytoma derived from Sdhb+/- rats. *Endocr Relat Cancer* 2020 ; 27 : 337-54.

Prasad S, Gupta SC, Tyagi AK. Reactive oxygen species (ROS) and cancer: Role of antioxidative nutraceuticals. *Cancer Lett* 2017 ; 387 : 95-105.

Puisieux A, Brabletz T, Caramel J. Oncogenic roles of EMT-inducing transcription factors. *Nat Cell Biol* 2014 ; 16 : 488-94.

Puisségur M-P, Mazure NM, Bertero T, *et al.* miR-210 is overexpressed in late stages of lung cancer and mediates mitochondrial alterations associated with modulation of HIF-1 activity. *Cell Death Differ* 2011 ; 18 : 465-78.

Qian L, Qi S, Wang Z, *et al.* Environmentally relevant concentrations of boscalid exposure affects the neurobehavioral response of zebrafish by disrupting visual and nervous systems. *J Hazard Mater* 2021 ; 404 : 124083.

Qian L, Qi S, Cao F, *et al.* Effects of penthiopyrad on the development and behaviour of zebrafish in early-life stages. *Chemosphere* 2019a ; 214 : 184-94.

Qian L, Zhang J, Chen X, *et al.* Toxic effects of boscalid in adult zebrafish (Danio rerio) on carbohydrate and lipid metabolism. *Environ Pollut* 2019b ; 247 : 775-82.

Qian L, Cui F, Yang Y, *et al.* Mechanisms of developmental toxicity in zebrafish embryos (Danio rerio) induced by boscalid. *Sci Total Environ* 2018a ; 634 : 478-87.

Qian L, Qi S, Cao F, *et al.* Toxic effects of boscalid on the growth, photosynthesis, antioxidant system and metabolism of Chlorella vulgaris. *Environ Pollut* 2018b ; 242 : 171-81.

Ren Y, Yang N, Yue Y, *et al.* Investigation of novel pyrazole carboxamides as new apoptosis inducers on neuronal cells in Helicoverpa zea. *Bioorg Med Chem* 2018 ; 26 : 2280-6.

Rouquié D, Tinwell H, Blanck O, *et al.* Thyroid tumor formation in the male mouse induced by fluopyram is mediated by activation of hepatic CAR/PXR nuclear receptors. *Regul Toxicol Pharmacol* 2014 ; 70 : 673-80. •

Ruprecht J, Yankovskaya V, Maklashina E, *et al*. Structure of Escherichia coli succinate: quinone oxidoreductase with an occupied and empty quinone-binding site. *J Biol Chem* 2009 ; 284 : 29836-46.

Rustin P, Rötig A. Inborn errors of complex II--unusual human mitochondrial diseases. *Biochim Biophys Acta* 2002 ; 1553 : 117-22.

Sakai C, Tomitsuka E, Esumi H, *et al*. Mitochondrial fumarate reductase as a target of chemotherapy: from parasites to cancer cells. *Biochim Biophys Acta* 2012 ; 1820 : 643-51.

Sciacovelli M, Frezza C. Metabolic reprogramming and epithelial-to-mesenchymal transition in cancer. *FEBS J* 2017 ; 284 : 3132-44.

Sciacovelli M, Gonçalves E, Johnson TI, *et al*. Fumarate is an epigenetic modifier that elicits epithelial-to-mesenchymal transition. *Nature* 2016 ; 537 : 544-7.

Selak MA, Armour SM, MacKenzie ED, *et al*. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF-alpha prolyl hydroxylase. *Cancer Cell* 2005 ; 7 : 77-85.

Selby TP, Hughes KA, Rauh JJ, *et al*. Synthetic atpenin analogs: Potent mitochondrial inhibitors of mammalian and fungal succinate-ubiquinone oxidoreductase. *Bioorg Med Chem Lett* 2010 ; 20 : 1665-8.

Shimizu T, Inoue K, Hachiya H, *et al*. Frequent alteration of the protein synthesis of enzymes for glucose metabolism in hepatocellular carcinomas. *J Gastroenterol*. 2014 ; 49 : 1324-32.

Siebers EM, Choi MJ, Tinklenberg JA, *et al*. Sdha+/- rats display minimal muscle pathology without significant behavioral or biochemical abnormalities. *J Neuropathol Exp Neurol* 2018 ; 77 : 665-72.

Sierotzki H, Scalliet G. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology* 2013 ; 103 : 880-7. •

Silva V, Mol HGJ, Zomer P, *et al*. Pesticide residues in European agricultural soils - A hidden reality unfolded. *Sci Total Environ* 2019 ; 653 : 1532-45.

Simon-Delso N, San Martin G, Bruneau E, *et al*. Time-to-death approach to reveal chronic and cumulative toxicity of a fungicide for honeybees not revealed with the standard ten-day test. *Sci Rep* 2018 ; 8 : 7241.

Sinclair GM, O'Brien AL, Keough M, *et al*. Using metabolomics to assess the sublethal effects of zinc and boscalid on an estuarine polychaete worm over time. *Metabolomics* 2019 ; 15 : 108.

Slane BG, Aykin-Burns N, Smith BJ, *et al*. Mutation of succinate dehydrogenase subunit C results in increased O2.-, oxidative stress, and genomic instability. *Cancer Res* 2006 ; 66 : 7615-20.

Smith EH, Janknecht R, Maher LJ. Succinate inhibition of alpha-ketoglutarate-dependent enzymes in a yeast model of paraganglioma. *Hum Mol Gen* 2007 ; 16 : 3136-48.

Sun F, Huo X, Zhai Y, *et al*. Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II. *Cell* 2005 ; 121 : 1043-57.

Szeto SSW, Reinke SN, Sykes BD, *et al*. Ubiquinone-binding site mutations in the Saccharomyces cerevisiae succinate dehydrogenase generate superoxide and lead to the accumulation of succinate. *J Biol Chem* 2007 ; 282 : 27518-26.

Takahata S, Kubota N, Takei-Masuda N, *et al*. Mechanism of action of ME1111, a novel antifungal agent for topical treatment of onychomycosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2016 ; 60 : 873-80.

Tamura M, Matsui H, Tomita T, *et al*. Mitochondrial reactive oxygen species accelerate gastric cancer cell invasion. *J Clin Biochem Nutr* 2014 ; 54 : 12-7.

Tam WL, Weinberg RA. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer. *Nat Med* 2013 ; 19 : 1438-49.

Tanner CM, Kamel F, Ross GW, *et al*. Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease. *Environ Health Perspect* 2011 ; 119 : 866-72.

Tawara T, Fukushima T, Hojo N, *et al*. Effects of paraquat on mitochondrial electron transport system and catecholamine contents in rat brain. *Arch Toxicol* 1996 ; 70 : 585-9.

Teng M, Wang C, Song M, *et al*. Chronic exposure of zebrafish (Danio rerio) to flutolanil leads to endocrine disruption and reproductive disorders. *Environ Res* 2020 ; 184 : 109310.

Teng M, Zhou Y, Song M, *et al*. Chronic toxic effects of flutolanil on the liver of zebrafish (Danio rerio). *Chem Res Toxicol* 2019 ; 32 : 995-1001.

Teng M, Zhu W, Wang D, *et al*. Acute exposure of zebrafish embryo (Danio rerio) to flutolanil reveals its developmental mechanism of toxicity via disrupting the thyroid system and metabolism. *Environ Pollut* 2018 ; 242 : 1157-65.

Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, *et al*. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009 ; 139 : 871-90.

Tinwell H, Rouquié D, Schorsch F, *et al*. Liver tumor formation in female rat induced by fluopyram is mediated by CAR/PXR nuclear receptor activation. *Regul Toxicol Pharmacol* 2014 ; 70 : 648-58. •

Toumi K, Joly L, Vleminckx C, *et al*. Biological monitoring of exposure to pesticide residues among Belgian florists. *Hum Ecol Risk Assess* 2020 ; 26 : 636-53.

Trist BG, Hare DJ, Double KL. Oxidative stress in the aging substantia nigra and the etiology of Parkinson's disease. *Aging Cell* 2019 ; 18 : e13031.

Tsang VHM, Dwight T, Benn DE, *et al*. Overexpression of miR-210 is associated with SDH-related pheochromocytomas, paragangliomas, and gastrointestinal stromal tumours. *Endocr Relat Cancer* 2014 ; 21 : 415-26.

Tseng P-L, Wu W-H, Hu T-H, *et al*. Decreased succinate dehydrogenase B in human hepatocellular carcinoma accelerates tumor malignancy by inducing the Warburg effect. *Sci Rep* 2018 ; 8 : 1-16.

Urbini M, Astolfi A, Indio V, *et al.* SDHC methylation in gastrointestinal stromal tumors (GIST): a case report. *BMC Med Genet* 2015 ; 16 : 87.

Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009 ; 324 : 1029-33.

Vasanthakumar A, Godley LA. 5-hydroxymethylcytosine in cancer: significance in diagnosis and therapy. *Cancer Genet* 2015 ; 208 : 167-77.

Velki M, Weltmeyer A, Seiler TB, *et al.* Acute toxicities and effects on multixenobiotic resistance activity of eight pesticides to the earthworm Eisenia andrei. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019 ; 26 : 4821-32.

Wade A, Lin C-H, Kurkul C, *et al.* Combined toxicity of insecticides and fungicides applied to California almond orchards to honey bee larvae and adults. *Insects* 2019 ; 10 : 20.

Wang A, Costello S, Cockburn M, *et al.* Parkinson's disease risk from ambient exposure to pesticides. *Eur J Epidemiol* 2011 ; 26 : 547-55.

Wang H, Meng Z, Liu F, *et al.* Characterization of boscalid-induced oxidative stress and neurodevelopmental toxicity in zebrafish embryos. *Chemosphere* 2020 ; 238 : 124753.

Wang H, Chen Y, Wu G. SDHB deficiency promotes TGFβ-mediated invasion and metastasis of colorectal cancer through transcriptional repression complex SNAIL1-SMAD3/4. *Transl Oncol* 2016 ; 9 : 512-20.

Wentzel JF, Lewies A, Bronkhorst AJ, *et al.* Exposure to high levels of fumarate and succinate leads to apoptotic cytotoxicity and altered global DNA methylation profiles in vitro. *Biochimie* 2017 ; 135 : 28-34.

Wu S, Lei L, Liu M, *et al.* Single and mixture toxicity of strobilurin and SDHI fungicides to Xenopus tropicalis embryos. *Ecotoxicol Environ Saf* 2018 ; 153 : 8-15.

Xiao M, Yang H, Xu W, *et al.* Inhibition of α-KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors. *Genes Dev* 2012 ; 26 : 1326-38.

Yang Y, Dong F, Liu X, *et al.* Developmental toxicity by thifluzamide in zebrafish (Danio rerio): Involvement of leptin. *Chemosphere* 2019a ; 221 : 863-9.

Yang Y, Dong F, Liu X, *et al.* Dysregulation of circadian rhythm in zebrafish (Danio rerio) by thifluzamide: Involvement of positive and negative regulators. *Chemosphere* 2019b ; 235 : 280-7.

Yang Y, Dong F, Liu X, *et al.* Flutolanil affects circadian rhythm in zebrafish (Danio rerio) by disrupting the positive regulators. *Chemosphere* 2019c ; 228 : 649-55.

Yang Y, Dong F, Liu X, *et al.* Crosstalk of oxidative damage, apoptosis, and autophagy under endoplasmic reticulum (ER) stress involved in thifluzamide-induced liver damage in zebrafish (Danio rerio). *Environ Pollut* 2018a ; 243 : 1904-11.

Yang Y, Dong F, Liu X, *et al.* Thifluzamide affects lipid metabolism in zebrafish (Danio reio). *Sci Total Environ* 2018b ; 633 : 1227-36.

Yang Y, Liu W, Li D, *et al.* Altered glycometabolism in zebrafish exposed to thifluzamide. *Chemosphere* 2017 ; 183 : 89-96.

Yang Y, Liu W, Mu X, *et al*. Biological response of zebrafish embryos after short-term exposure to thifluzamide. *Sci Rep* 2016a ; 6 : 38485.

Yang Y, Qi S, Wang D, *et al*. Toxic effects of thifluzamide on zebrafish (Danio rerio). *J Hazard Mater* 2016b ; 307 : 127-36.

Yankovskaya V, Horsefield R, Törnroth S, *et al*. Architecture of succinate dehydrogenase and reactive oxygen species generation. *Science* 2003 ; 299 : 700.

Yao H, Xu X, Zhou Y, *et al*. Impacts of isopyrazam exposure on the development of early-life zebrafish (Danio rerio). *Environ Sci Pollut Res Int* 2018a ; 25 : 23799-808.

Yao H, Yu J, Zhou Y, *et al*. The embryonic developmental effect of sedaxane on zebrafish (Danio rerio). *Chemosphere* 2018b ; 197 : 299-305.

Yao X, Zhang F, Qiao Z, *et al*. Toxicity of thifluzamide in earthworm (Eisenia fetida). *Ecotoxicol Environ Saf* 2020 ; 188 : 109880.

Ye X, Weinberg RA. Epithelial-mesenchymal plasticity: a central regulator of cancer progression. *Trends Cell Biol* 2015 ; 25 : 675-86.

Yin YN, Kim YK, Xiao CL. Molecular characterization of boscalid resistance in field isolates of Botrytis cinerea from apple. *Phytopathology* 2011 ; 101 : 986-95.

Zhang J, Fitsanakis VA, Gu G, *et al*. Manganese ethylene-bis-dithiocarbamate and selective dopaminergic neurodegeneration in rat: a link through mitochondrial dysfunction. *J Neurochem* 2003 ; 84 : 336-46.

Zhao T, Mu X, You Q. Succinate: An initiator in tumorigenesis and progression. *Oncotarget* 2017 ; 8 : 53819-28.

Communications

Cohorte AGRIculture & CANcer (AGRICAN)

Pierre Lebailly
Université de Caen Normandie, Inserm U 1086 « ANTICIPE »

Contexte

Les cancers représentent la première cause de décès en France comme dans de nombreux pays à haut revenu. Les facteurs de risque de cancers sont encore mal connus pour de nombreux cancers même pour certains parmi les plus fréquents (prostate, sein par exemple). L'agriculture française est au premier plan en Europe pour de nombreuses productions mais aussi pour l'utilisation de pesticides. La population agricole représente, pour la question des effets des pesticides sur la santé, une population tout particulièrement intéressante, en raison d'expositions généralement répétées et prolongées, selon des pratiques et à des niveaux qu'il est a priori possible de décrire et de prendre en compte dans des analyses épidémiologiques.

Les niveaux d'expositions professionnelles, plus élevés et mieux caractérisés, offrent une opportunité toute particulière de comprendre les effets de santé, plus facilement qu'en population générale, et de tenter d'établir des relations doses-effets. Ainsi, c'est en population agricole que de nombreux arguments ont été produits dans la littérature scientifique concernant une élévation du risque de nombreuses pathologies – notamment cancéreuses (prostate, lymphomes, leucémies, tumeurs du système nerveux central...) – chez les personnes professionnellement exposées à certains pesticides, plaçant cette question parmi les grands enjeux de santé publique. Des questions demeurent sur les nuisances pouvant également entraîner des risques de cancers en milieu agricole (poussières, mycotoxines, gaz d'échappement, virus animaux...). Cependant, même pour la nuisance la plus étudiée à ce jour (les pesticides), de nombreuses interrogations persistent car *i*) certains pesticides n'ont quasiment pas été étudiés (antiparasitaires utilisés sur animaux, biocides utilisés dans les bâtiments, nombreuses familles chimiques de pesticides très utilisées en Europe mais pas ou peu aux États-Unis) et *ii*) aucune méthode validée et consensuelle n'existe à ce jour pour identifier les personnes exposées (tâches à prendre en considération, uniquement l'utilisation ou bien les expositions

secondaires comme la ré-entrée ou encore les récoltes, matières actives utilisées) ou quantifier leur niveau d'exposition. La conduite de vastes cohortes prospectives est une des solutions pour répondre à ces questions en s'appuyant sur la couverture territoriale française des registres de cancers permettant l'obtention de données de qualité sur ces pathologies et sur une zone géographique couvrant bien les différents secteurs de production agricole métropolitaine. C'est pourquoi, dans la suite de la vaste cohorte américaine *Agricultural Health Study*, nous avons souhaité mettre en place il y a quinze ans une cohorte en France permettant de prendre en compte les spécificités du secteur agricole français.

Objectifs

Ainsi, les objectifs généraux de la cohorte prospective AGRIculture & CANcer (AGRICAN) sont d'étudier l'incidence des cancers (par localisation) et la mortalité globalement et pour des causes spécifiques dans un large échantillon d'affiliés de la Mutualité sociale agricole (MSA), comportant majoritairement des agriculteurs et des salariés agricoles, en activité ou retraités. Il s'agit principalement d'explorer le rôle des facteurs liés aux activités agricoles, en accordant une attention particulière à l'exposition aux pesticides mais aussi à d'autres facteurs comme ceux liés aux activités d'élevage (biocides, médicaments vétérinaires, produits de désinfection, mycotoxines, poussières...). La cohorte dispose de données recueillies auprès des personnes, permettant de tenir compte des facteurs individuels : modes de vie, tabagisme, alimentation, histoire reproductive.

Principaux éléments de méthode

L'étude AGRICAN a débuté en 2004 par la sélection de la population source grâce à l'accès aux fichiers des caisses départementales et centrale de la MSA. Les personnes ciblées devaient, au 1er janvier 2004, être adultes, affiliées au régime agricole pendant au moins 3 années au cours de leur vie professionnelle et résider dans un des 11 départements ciblés. Tous les départements disposant, en 2004, de registres de cancers qualifiés auprès du Comité national des registres avaient été sélectionnés. Seule la caisse MSA du département de l'Hérault a décliné la proposition. Ainsi, les années 2005 à 2007 ont été consacrées à l'envoi du questionnaire d'inclusion[117] à

117. Les questionnaires d'inclusion et de suivi (nommés Q0) sont disponibles sur le site www.anticipe.eu/thematiques/cancers-et-preventions/environnement-cancers/AGRICAN/deroulement [consulté le 27 mai 2020].

l'échantillon source de la cohorte (figure 1). La phase d'inclusion s'est terminée fin 2007, la validation des données du questionnaire a débuté en 2008 ainsi que la phase descriptive des données. Parallèlement, des analyses ont été réalisées sur les pathologies non cancéreuses, prévalentes à l'inclusion (asthme, bronchite chronique...). Le suivi de l'état de santé a débuté pour chaque membre de la cohorte dès son inclusion et concerne son statut vital, les causes de décès et la survenue d'un cancer. La première phase de suivi direct des expositions a débuté en 2014 par l'envoi du questionnaire principal de suivi, destiné à mettre à jour les informations sur les expositions professionnelles et les facteurs de confusion potentiels ainsi qu'à approfondir certains aspects de l'histoire professionnelle agricole et explorer d'autres évènements de santé. La figure ci-dessous rappelle brièvement les différentes étapes du déroulement de la cohorte AGRICAN sur la période allant de 2005 à 2020.

Près de 182 000 personnes ont été incluses lors de la phase d'inclusion. La cohorte était alors constituée de 32 % d'hommes chefs d'exploitations (âge moyen 62 ans, 47 % à la retraite), de 22 % d'hommes salariés agricoles (âge moyen 59 ans, 42 % à la retraite), de 22 % de femmes chefs d'exploitations (âge moyen 65 ans, 47 % à la retraite) et de 24 % de femmes salariées agricoles (âge moyen 66 ans, 63 % à la retraite). Le questionnaire d'inclusion comprenait environ 800 champs d'information incluant des données sur l'historique de tâches agricoles pour 5 élevages et 13 cultures. Dans le cadre du protocole de l'étude, différentes sources d'informations sont interrogées annuellement. Les informations sont donc collectées depuis l'année 2009 pour le suivi de l'affiliation agricole, l'adresse résidentielle (également auprès du fichier national de La Poste), le statut d'actif ou retraité, le statut marital et le statut vital auprès de chacune des caisses locales de la MSA, la confirmation du statut vital auprès du Répertoire national pour l'identification des personnes physiques (RNIPP) de l'INSEE directement accessible en ligne depuis début 2020, des causes de décès auprès du Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès de l'Inserm (CépiDc) et de façon bisannuelle de la prévalence et de l'incidence des cancers auprès des registres des cancers du réseau FRANCIM des départements concernés.

Ainsi, au 31 décembre 2015 (tableau I), près de 80 % des membres de la cohorte étaient toujours en vie, 20 % étaient décédés et le statut vital était inconnu pour seulement 1 % des membres de la cohorte (1 730 personnes). Parmi les personnes vivantes au 31 décembre 2015, elles étaient 2 973 à être sorties de la zone de suivi des registres (2 %, dont 54 % d'hommes).

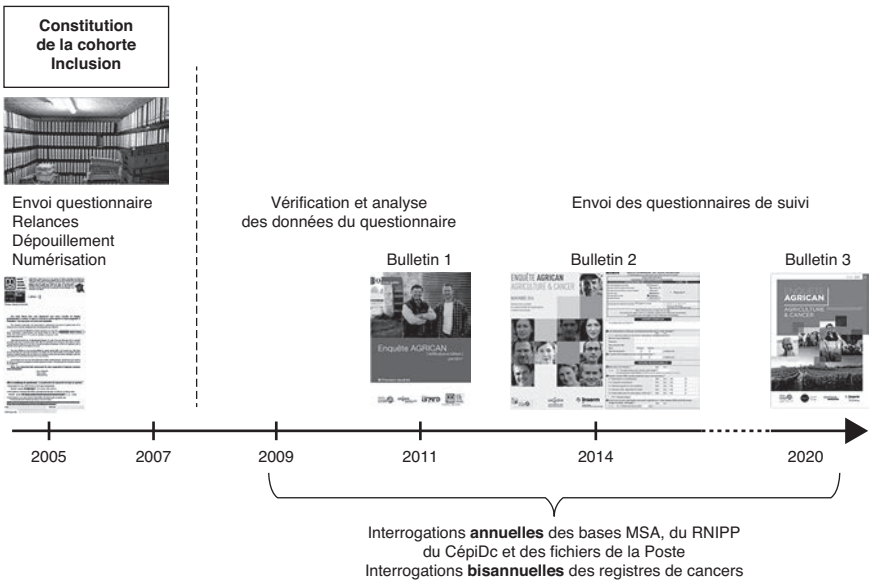


Figure 1 : Principales étapes du protocole de l'étude AGRICAN

Au total, les interrogations des bases ont été réalisées à ce jour sur site auprès des registres à 4 reprises (2012, 2014, 2016 et 2018). L'interrogation conduite en 2012 portait sur l'identification des cas de cancers survenus depuis la date d'inclusion (retour de l'auto-questionnaire d'inclusion) jusqu'au 31 décembre 2009 (dernière année validée en 2012 dans les registres du réseau FRANCIM) et à l'identification des cas prévalents de cancers. Les interrogations suivantes ont permis l'identification des cas incidents survenus dans chaque intervalle et la vérification systématique des cas de cancers antérieurs car il est habituel d'observer de nouveaux cas a posteriori ou/et des changements dans les informations relatives aux diagnostics voire l'exclusion de certains cas de cancers précédemment enregistrés.

Tableau I : Statut vital des membres de la cohorte AGRICAN à partir des données des MSA, du RNIPP et des services d'État civil des mairies de naissance entre l'inclusion et la fin d'année 2015

Membres de la cohorte	Vivants	Décédés	Statut inconnu
Tous (n = 181 842)	143 581 (79,0 %)	36 531 (20,0 %)	1 730 (1,0 %)
Hommes (n = 98 794)	76 969 (77,9 %)	20 899 (21,2 %)	926 (0,9 %)
Femmes (n = 83 048)	66 612 (80,2 %)	15 632 (18,8 %)	804 (1,0 %)

Résultats

Description de la mortalité par cause

La comparaison des causes de décès entre les différents groupes constituant la cohorte et la population générale a été produite régulièrement et publiée à ce jour uniquement sur la période entre l'inclusion et fin 2009 (Levêque-Morlais et coll., 2015). Au total, sur la période entre l'inclusion et la fin d'année 2015, 20 899 hommes et 15 632 femmes de la cohorte sont décédés (tableau I). Les rapports standardisés de mortalité (RSM) ont été calculés en prenant comme population de référence la population générale des départements concernés sur la même période, par sexe et par tranches de 5 ans d'âge. Les résultats sont présentés dans le tableau II. Les principales tendances observées sur la période 2005-2009 (Levêque-Morlais et coll., 2015) sont confirmées avec presque toujours des valeurs de RSM inférieures à 1, mais se rapprochant de cette valeur avec le temps. Ainsi, la mortalité globale présentait un RSM = 0,68 chez les hommes et RSM = 0,71 chez les femmes pour la période 2005-2009, et un RSM = 0,75 quel que soit le sexe sur la période 2005-2015. Parmi l'ensemble des causes de décès (période 2005-2009), deux apparaissent légèrement plus fréquentes chez les affiliés : *i*) les décès par arthrite rhumatoïde (RSM = 1,10 chez les hommes et RSM = 1,06 chez les femmes), se maintenant à un RSM = 1,13 chez les hommes mais diminuant nettement chez les femmes (RSM = 0,85), *ii*) les suicides significativement surreprésentés chez les hommes (RSM = 1,14) et chez les femmes (RSM = 1,46) sur la période 2005-2015. Cette surmortalité par suicide était observée aussi bien chez les exploitants que chez les salariés avec des valeurs plus fortes chez les femmes chefs d'exploitations (RSM = 2,05) et dans tous les départements sauf la Vendée et les départements alsaciens (données non présentées). Les résultats concernant les décès par cancer ne sont pas présentés car moins informatifs que ceux portant sur l'incidence. L'analyse de ces données se poursuit par la production de RSM incluant les dernières années, par statut professionnel (exploitant *versus* salarié) et par département. Une attention particulière est portée à certaines causes de décès par maladies neurodégénératives (sclérose latérale amyotrophique ou SLA, maladies de Parkinson et d'Alzheimer) dans le cadre d'un travail conduit au sein du consortium AGRICOH par l'équipe EPICENE de Bordeaux.

Tableau II : Causes de décès (hors cancers) au sein de la cohorte AGRICAN sur la période 2005-2015

Libellé CIM 10		Hommes		Femmes	
		Décès	RSM (IC 95 %)	Décès	RSM (IC 95 %)
I.	Maladies infectieuses et parasitaires	387	0,71 (0,63-0,78)*	303	0,70 (0,62-0,78)*
III.	Maladies du sang et des organes hématopoïétiques	82	0,77 (0,61-0,95)*	65	0,71 (0,55-0,90)*
IV.	Maladies endocriniennes, nutritionnelles et métaboliques	608	0,67 (0,62-0,72)*	570	0,66 (0,61-0,72)*
	Diabète sucré	360	0,62 (0,56-0,69)*	304	0,65 (0,58-0,73)*
V.	Troubles mentaux et du comportement	499	0,59 (0,54-0,65)*	524	0,56 (0,51-0,61)*
VI.	Maladies du système nerveux et des organes des sens	1 013	0,71 (0,67-0,75)*	987	0,63 (0,60-0,68)*
IX.	Maladie de l'appareil circulatoire	6 249	0,78 (0,76-0,80)*	5 459	0,80 (0,78-0,82)*
	Cardiopathies ischémiques	1 747	0,74 (0,70-0,77)*	1 095	0,79 (0,74-0,83)*
	Maladies cérébrovasculaires	1 284	0,78 (0,74-0,82)*	1 288	0,78 (0,74-0,82)*
X.	Maladies de l'appareil respiratoire	1 498	0,70 (0,67-0,74)*	929	0,67 (0,62-0,71)*
	Asthme	28	0,99 (0,66-1,43)	26	0,60 (0,39-0,88)*
XI.	Maladies de l'appareil digestif	761	0,67 (0,62-0,72)*	543	0,68 (0,62-0,73)*
XII.	Infections de la peau et du tissu cellulaire sous-cutané	49	0,84 (0,62-1,11)	45	0,55 (0,40-0,73)*
XIII.	Maladies du système ostéo-articulaire, des muscles et du tissu conjonctif	166	0,99 (0,84-1,15)	151	0,75 (0,64-0,88)*
	Arthrite rhumatoïde et ostéoarthrite	19	1,13 (0,68-1,77)	35	0,85 (0,59-1,19)
XIV.	Maladies de l'appareil génito-urinaire	353	0,64 (0,58-0,71)*	257	0,65 (0,57-0,73)*
XX.	Causes externes de blessure et d'empoisonnement	1 357	0,86 (0,81-0,91)*	819	0,80 (0,75-0,86)*
	Accidents	867	0,78 (0,73-0,83)*	653	0,74 (0,69-0,80)*
	Intoxications accidentelles	41	0,70 (0,50-0,95)*	43	0,88 (0,64-1,19)
	Suicides	423	1,14 (1,03-1,25)*	121	1,46 (1,21-1,75)*
Toutes causes de décès		20 899	0,75 (0,74-0,76)*	15 632	0,75 (0,74-0,76)*

CIM-10 : 10e révision de la Classification internationale des maladies ; RSM : rapports standardisés de mortalité. * : $p < 0,05$

Description de l'incidence des cancers

Comparaison à la population générale des départements concernés

La comparaison de l'incidence des cancers au sein de la cohorte à celle observée au sein de la population générale n'a été publiée que sur la période entre l'inclusion et le 31 décembre 2011 (Lemarchand et coll., 2017). Sont présentés ci-après les principaux résultats obtenus entre l'inclusion et le 31 décembre 2015. Ainsi, après le quatrième croisement avec les données des registres de cancers réalisé en 2018, un nombre total de 18 619 cancers incidents a été enregistré. Le tableau III présente les résultats pour les principaux cancers, disponibles pour 46 localisations tumorales chez les hommes et 47 chez les femmes. Au total, les principales conclusions chez les hommes sont les suivantes :

- une sous-incidence tous cancers très faiblement inférieure à celle de la population générale (- 7 %) mais statistiquement significative pour l'ensemble des cancers ;
- une augmentation très faible mais statistiquement significative pour le cancer de la prostate avec une valeur de RSI stable au cours du suivi (1,07 entre 2005-2011 *versus* 1,03 entre 2005-2015) ;
- une sur-incidence statistiquement significative pour les cancers des lèvres (RSI = 1,38). Concernant ce cancer et en l'état actuel du suivi, le nombre de cas incidents est trop faible pour identifier les éventuels facteurs professionnels associés ;
- une sur-incidence statistiquement significative pour les lymphomes non hodgkiniens (+9 %), notamment pour les myélomes multiples (+20 %) et pour les lymphomes plasmocytaires (+49 %) ;
- une sous-incidence devenue au cours du suivi statistiquement significative pour les cancers de l'estomac (- 14 %) et une sous-incidence pour différents cancers digestifs (œsophage, pancréas, hépatique, anus et côlon mais pas les cancers du rectum), respiratoires, de l'oro-pharynx et de la vessie.

Les principales conclusions chez les femmes sont :

- une sous-incidence tous cancers très faiblement inférieure à celle de la population générale (- 5 %) mais statistiquement significative pour l'ensemble des cancers ;
- une sur-incidence à la limite de la significativité statistique pour les lymphomes non hodgkiniens (+7 %), notamment pour les myélomes multiples (+21 %), une sur-incidence devenue statistiquement significative au cours du suivi pour les lymphomes plasmocytaires (+58 %) ;
- une sur-incidence des mélanomes cutanés (+29 %) ;

• une sous-incidence pour différents cancers digestifs (hépatique, anus et rectum mais pas les cancers du côlon), respiratoires, du sein et de l'oro-pharynx ;

• une sous-incidence devenue statistiquement significative en cours de suivi pour les cancers de l'œsophage (- 27 %), du col de l'utérus (- 40 %) et de la vessie (- 22 %).

Tableau III : Rapports standardisés d'incidence (RSI) des cancers au sein de la cohorte AGRICAN sur la période 2005-2015

Cancers	RSI (IC 95 % ; nombre de cas incidents)	
	Hommes	Femmes
Tous cancers	**0,93*** (0,91-0,95 ; 12 026)	**0,95*** (0,93-0,98 ; 6 590)
Mélanomes cutanés	0,97 (0,87-1,08 ; 323)	**1,29*** (1,15-1,45 ; 299)
Cancers des lèvres	**1,55*** (1,13-2,08 ; 44)	0,80 (0,35-1,58 ; 8)
Cancers du pharynx et cavité orale	**0,57*** (0,51-0,64 ; 296)	**0,64*** (0,50-0,81 ; 71)
Cancers du côlon	**0,87*** (0,82-0,93 ; 949)	0,95 (0,88-1,03 ; 681)
Cancers du rectum	1,00 (0,92-1,08 ; 595)	**0,83*** (0,73-0,94 ; 249)
Cancers de l'œsophage	**0,78*** (0,68-0,89 ; 232)	**0,72*** (0,52-0,98 ; 41)
Cancers de l'estomac	**0,88*** (0,79-0,98 ; 316)	1,00 (0,84-1,17 ; 145)
Cancers hépatiques	**0,75*** (0,68-0,83 ; 410)	**0,69*** (0,54-0,86 ; 73)
Cancers pancréatiques	**0,79*** (0,71-0,89 ; 305)	0,97 (0,86-1,09 ; 287)
Cancers du sein	0,87 (0,58-1,26 ; 28)	**0,86*** (0,82-0,91 ; 1 700)
Cancers de l'ovaire		1,11 (0,98-1,25 ; 260)
Cancers de la prostate	**1,03*** (1,00-1,06 ; 3 911)	
Cancers du testicule	0,91 (0,61-1,29 ; 30)	
Cancers broncho-pulmonaires	**0,58*** (0,55-0,62 ; 1 066)	**0,67*** (0,59-0,75 ; 282)
Cancers de la vessie	**0,66*** (0,61-0,72 ; 502)	**0,78*** (0,64-0,94 ; 111)
Cancers du rein	0,95 (0,87-1,04 ; 496)	1,03 (0,89-1,17 ; 214)
Cancers du système nerveux central	1,00 (0,84-1,18 ; 146)	0,97 (0,78-1,19 ; 87)
Glioblastomes	1,05 (0,85-1,28 ; 94)	0,87 (0,64-1,17 ; 45)
Cancers de la thyroïde	0,92 (0,72-1,16 ; 74)	1,15 (0,99-1,33 ; 180)
Maladie de Hodgkin	0,99 (0,66-1,42 ; 29)	1,14 (0,65-1,85 ; 16)
Lymphome malin non hodgkinien	**1,09* (1,02-1,16 ; 1 004)**	1,07 (0,99-1,16 ; 597)
Leucémie lymphoïde chronique	1,03 (0,90-1,17 ; 238)	0,91 (0,75-1,09 ; 115)
Lymphome Diffus à Cellules B	1,04 (0,89-1,21 ; 164)	0,97 (0,79-1,17 ; 104)
Myélome multiple	**1,20*** (1,05-1,37 ; 227)	**1,21*** (1,03-1,42 ; 156)
Lymphome lymphoplasmocytaire	**1,49*** (1,22-1,80 ; 107)	**1,58*** (1,17-2,10 ; 48)
Leucémie aiguë myéloïde	0,92 (0,74-1,12 ; 97)	0,96 (0,74-1,23 ; 65)
Syndrome myélodysplasique	0,93 (0,81-1,05 ; 225)	1,07 (0,91-1,26 ; 148)
Syndrome myéloprolifératif chronique	0,94 (0,80-1,11 ; 145)	1,02 (0,85-1,23 ; 115)
Sarcomes	1,02 (0,86-1,21 ; 136)	0,93 (0,74-1,14 ; 89)

* RSI statistiquement significatif au seuil 5 %, en fond gris sombre ceux avec un risque significativement supérieur à 1 et en fond gris clair ceux avec un risque significativement inférieur à 1

Analyse interne des déterminants de cancers et de maladies non cancéreuses

- ***Lien avec les activités agricoles (élevages et cultures) et tâches spécifiques***

Au-delà de ces comparaisons externes, des analyses internes ont à ce jour porté sur trois maladies non cancéreuses : asthme (Baldi et coll., 2014), bronchite chronique (Tual et coll., 2013) et maladie de Parkinson (Pouchieu et coll., 2018) et sur plusieurs cancers : les cancers pulmonaires (globalement et pour 3 sous-types histologiques : les adénocarcinomes, les cancers épidermoïdes et les cancers à petites cellules) (Tual et coll., 2017 ; Boulanger et coll., 2018), les cancers de la prostate (Lemarchand et coll., 2016), les cancers de la vessie (Boulanger et coll., 2017), les cancers du sein (thèse doctorale de C. Lemarchand, 2015) les cancers du système nerveux central (globalement et pour les gliomes et les méningiomes) (Piel et coll., 2017) et les myélomes multiples (Tual et coll., 2019). D'autres analyses sont en cours de publication sur les sarcomes (Renier et coll., soumis pour publication), les lymphomes non hodgkiniens globalement et pour trois sous-types de lymphomes (lymphomes diffus à grandes cellules B ; leucémies lymphoïdes chroniques et myélomes multiples).

Ces analyses étaient essentiellement focalisées sur le lien entre la survenue d'une maladie donnée et les contextes agricoles : secteurs de production et tâches particulières (tableaux IV et V).

Tableau IV : Synthèse des résultats sur l'association entre cultures ou élevages et le risque de cancer selon la localisation dans la cohorte AGRICAN (au 1er mai 2020)

	Bovins	Chevaux	Porcins	Ovins/caprins	Volaille	Prairies	Blé-orge	Maïs	Viticulture	Pommes de terre	Betteraves	Arboriculture	Pois/fèverole	Colza	Tournesol	Tabac	Serres	Maraîchage
Prostate																		
Poumons									A		E	E		E				
Vessie																		
TSNC			M			G			G		M				M			
Sarcomes																		
LNH																		
MM																		
LLC																		
LDGCB																		

A : Adénocarcinomes ; E : Carcinomes épidermoïdes ; M : Méningiomes ; G : Gliomes ; LDGCB : Lymphomes diffus à grandes cellules B ; LLC : Leucémies lymphoïdes chroniques ; LNH : Lymphomes non hodgkiniens ; MM : Myélomes multiples ; TSNC : Tumeurs du système nerveux central. Les cases sur fond gris sombre indiquent une augmentation de risque associé à l'activité (culture ou élevage) pour le cancer concerné, sur fond blanc, une absence d'association et sur fond gris clair une diminution de risque.

Des activités réalisées sur des prairies ont été associées positivement aux cancers de la prostate (réalisation des foins), aux gliomes et aux lymphomes notamment les lymphomes diffus à grandes cellules B (utilisation d'herbicides dans les deux cas). Les cultures de blé-orge et de maïs ont été associées positivement aux lymphomes non hodgkiniens et plus particulièrement aux myélomes multiples et aux leucémies lymphoïdes chroniques chez les personnes utilisant des pesticides. L'utilisation de pesticides sur des vignes a été associée positivement aux adénocarcinomes pulmonaires, aux gliomes et aux lymphomes diffus à grandes cellules B. La culture de pommes de terre et plus particulièrement l'utilisation de pesticides a été associée positivement aux cancers de la prostate, du sein et aux tumeurs du système nerveux central mais négativement aux lymphomes non hodgkiniens. La culture de betteraves (sans distinction des betteraves fourragères ou sucrières) a été associée positivement à 4 cancers (cancers pulmonaires épidermoïdes, aux méningiomes, aux lymphomes non hodgkiniens, plus particulièrement les myélomes multiples et les leucémies lymphoïdes chroniques). L'arboriculture fruitière a été associée positivement au cancer de la prostate (traitements et récolte) et aux cancers épidermoïdes (taille). La culture de pois fourragers ou/et de fèveroles a été associée positivement aux cancers pulmonaires (récolte et utilisation de pesticides), aux tumeurs du système nerveux central (utilisation de pesticides) et aux cancers du sein et de la vessie. La culture de colza a été associée positivement aux carcinomes pulmonaires épidermoïdes, aux cancers de la vessie, aux lymphomes non hodgkiniens globalement (plus particulièrement la tâche de semis) et aux myélomes multiples. La culture de tournesol a été associée positivement au cancer de la prostate, aux méningiomes (traitements pesticides), aux sarcomes (plus particulièrement le semis) et aux lymphomes non hodgkiniens (tâche de traitements de semences). La culture de tabac a été associée aux cancers de la prostate et aux lymphomes diffus à grandes cellules B. Enfin, les cultures de légumes en plein champs ainsi que les cultures sous serres ont été associées à de nombreux cancers (poumons, sein, vessie, système nerveux central et sarcomes) avec le plus souvent un effet durée et surface mais sans qu'il soit possible d'identifier des tâches particulières (données non recueillies dans le questionnaire d'inclusion).

L'élevage de bovins a été associé positivement à plusieurs cancers (prostate, sarcomes et lymphomes non hodgkiniens notamment les myélomes multiples). Les tâches principalement associées à ces excès concernaient l'utilisation d'insecticides sur animaux mais aussi l'utilisation de produits de désinfection. En revanche, des tâches associées au contact avec les animaux ont été associées négativement à plusieurs autres cancers (poumons et sein). L'élevage de chevaux, essentiellement pour les personnes les traitant avec

des insecticides, a été associé positivement aux myélomes multiples et négativement aux cancers pulmonaires. L'élevage de cochons a été associé positivement à 3 cancers (prostate, poumons et méningiomes). L'élevage de chèvres et/ou de moutons a été associé à la survenue de lymphomes diffus à grandes cellules B notamment les tâches de contact avec les animaux et de désinfection des locaux. L'élevage de volailles a été associé positivement aux sarcomes mais négativement aux lymphomes non hodgkiniens et plus particulièrement aux leucémies lymphoïdes chroniques et aux lymphomes diffus à grandes cellules B.

D'autre part, des analyses entre la prévalence de certaines pathologies non cancéreuses déclarées par les personnes dans le questionnaire d'inclusion ont été réalisées. Elles sont présentées dans le tableau V ci-dessous et portaient sur la bronchite chronique (Tual et coll., 2013), l'asthme (Baldi et coll., 2014) et le lien entre expositions professionnelles aux pesticides et maladie de Parkinson (Pouchieu et coll., 2018). Les prévalences observées lors de l'inclusion dans la cohorte étaient respectivement de 8 % pour la bronchite chronique et l'asthme et de 1,2 % pour la maladie de Parkinson.

Tableau V : Synthèse des résultats sur l'association entre l'exercice de différentes activités agricoles et le risque de pathologies non cancéreuses dans la cohorte AGRICAN

	Bovins	Chevaux	Porcins	Ovins/caprins	Volaille	Prairies	Blé-orge	Maïs	Viticulture	Pommes de terre	Betteraves	Arboriculture	Pois/féverole	Colza	Tournesol	Tabac	Serres	Maraîchage
BC	■									■								
Asthme		■				■			■		■	■					■	
Parkinson	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	NA	NA

BC : Bronchite chronique ; NA : non applicable car pas d'information sur les tâches pour ces secteurs. Les cases sur fond gris indiquent une augmentation de risque associé à l'activité (culture ou élevage) pour la pathologie concernée, sur fond blanc, une absence d'association

- ***Lien avec l'exposition à des pesticides particuliers***

Des analyses ont débuté courant 2017 sur les effets de certaines substances pesticides sur des cancers ou la maladie de Parkinson. Les critères de choix principaux pour sélectionner une substance et, sans que cette liste soit exhaustive, portaient sur *i*) leur utilisation importante en France métropolitaine, *ii*) la suspicion d'effets sur la santé d'après les données épidémiologiques et/ou toxicologiques et *iii*) sur une maladie pour laquelle la puissance statistique était satisfaisante à ce stade du suivi. L'identification des membres

de la cohorte exposés à une substance donnée est réalisée en utilisant d'une part les réponses au questionnaire d'inclusion sur les années de début et de fin d'usage de pesticides pour 11 cultures et 5 élevages et, d'autre part, les tables de la matrice PESTIMAT concernant l'usage des molécules de la famille chimique étudiée en France métropolitaine depuis 1950 (1980 pour les élevages). À ce jour, les tables ont été élaborées pour 4 familles d'insecticides (organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthrinoïdes), 9 familles d'herbicides (thiocarbamates, phénoxyherbicides, urées substituées incluant les sulfonylurées, triazines, dinitroanilines, chloroacétanilides, dinitrophénols, paraquat et diquat) et 6 familles de fongicides (arsenicaux, phtalimides, dicarboximides, dithiocarbamates, triazoles et benzimidazoles). En utilisant les données de la matrice, des analyses ont été menées sur le lien entre la prévalence de maladie de Parkinson et l'exposition aux pesticides les plus fréquemment associés à cette maladie dans la littérature internationale (Pouchieu et coll., 2018). D'autres analyses issues du travail de thèse de Clément Piel ont fait l'objet de deux publications (Piel et coll., 2019a ; Piel et coll., 2019b) et portent d'une part sur le lien entre les tumeurs du système nerveux central et l'exposition aux insecticides de la famille des carbamates (19 molécules étudiées), l'exposition aux herbicides carbamates (7 molécules) ou thiocarbamates (7 molécules également) et les fongicides carbamates (5 molécules) et dithiocarbamates (11 molécules). Le choix de ces familles s'appuyait sur des arguments toxicologiques (capacité à traverser la barrière hématoencéphalique, classement vis-à-vis de la cancérogénicité, possibilité de donner des dérivés nitrosés). Neuf des 19 insecticides carbamates ont été associés positivement aux tumeurs du système nerveux central, 3 d'entre eux en confirmation de données épidémiologiques existantes (carbaryl, fénoxycarbe et thiodicarbe) et d'autres de façon originale (formétanate, dioxacarbe, promécarbe, isolane, thiofanox et méthomyl). Parallèlement, l'exposition aux fongicides carbamates et dans une moindre mesure aux herbicides carbamates a été associée positivement au risque de tumeurs du système nerveux central. Des associations positives ont été également mises en évidence avec des molécules spécifiques fongicides (mancozèbe, manèbe et métirame) ou herbicides (chlorprophame, prophame et diallate).

Perspectives

Au cours des prochaines années, des analyses seront menées sur le lien entre :

- les cancers de la prostate et l'exposition aux insecticides organochlorés, aux fongicides triazoles, et aux herbicides urées et acétamides ;

• les cancers pulmonaires et les herbicides dinitroanilines dont la pendiméthaline ;

• les LNH et leurs principaux sous-types et l'exposition aux fongicides benzimidazoles, aux herbicides chloroacétamides, phénoxy et triazines et aux insecticides organochlorés et pyréthrinoïdes ;

• les cancers du sein et l'exposition aux insecticides organophosphorés et pyréthrinoïdes ;

• par ailleurs, nous poursuivrons des analyses basées sur les données de la matrice PESTIMAT, en permanence évolutive. La matrice comportera des données additionnelles sur les probabilités, intensités et fréquences de certaines molécules, de nouvelles tables pour certaines familles chimiques (notamment inhibiteurs de la succinate déshydrogénase ou SDHi ; désherbants totaux dont le glyphosate, chlorothalonil et produits apparentés, dinitrophénols...), l'ajout de tables sur les élevages – pour certaines familles chimiques (insecticides organochlorés, pyréthrinoïdes notamment), des données sur les traitements de semences ;

• une approche d'épidémiologie moléculaire sera conduite et portera notamment sur les relations entre activités professionnelles agricoles dont l'utilisation de pesticides spécifiques (mesure de l'imprégnation urinaire et/ou sérique) et des effets génotoxiques (notamment test des comètes à haut débit) et épigénétiques (notamment recherche de bases modifiées de l'ADN) recherchés au sein de la cohorte EPIBIO97 en utilisant une biothèque déjà constituée (Roulland et coll., 2004 ; Agopian et coll., 2009) et au sein de nouvelles collections biologiques dans différents secteurs de production agricole ;

• le suivi de la santé des membres de la cohorte (statut vital, causes de décès et incidence de cancers) continuera avec 4 000 décès attendus par année de suivi supplémentaire et environ 2 000 cancers incidents annuels ;

• dans le domaine des pathologies non cancéreuses (respiratoires ou neurologiques), des questions ont été de nouveau posées aux membres de la cohorte permettant d'approcher l'incidence de certaines d'entre elles (asthme, maladie de Parkinson pour exemples) et une interrogation des bases MSA (sur des variables concernant certaines affections longue durée, la consommation de certains médicaments ou encore la réalisation de certains actes médicaux) sera testée. L'autorisation d'accès à ces données a été spécifiquement demandée aux membres de la cohorte dans le cadre du questionnaire principal de suivi ;

• des questionnaires complémentaires seront soumis aux membres encore en activité au moment de la phase d'inclusion et plus particulièrement à ceux toujours en activité lors de la première phase de suivi (environ 40 000 personnes toujours en activité en début 2019) ;

• des études de terrain sur l'exposition aux pesticides seront poursuivies au moins dans le secteur du paysagisme, en cultures céréalières et en viticulture et sur l'exposition à d'autres nuisances professionnelles agricoles comme les contaminants aéroportés (programme AirExpA).

Conclusion

Après 15 années, la cohorte AGRICAN a permis de produire un certain nombre de résultats originaux dans le contexte français et plus largement dans le contexte international. Ainsi, jusqu'en 2015, près de 20 000 cancers incidents ont été diagnostiqués parmi les membres de la cohorte contre plus de 12 000 cancers incidents observés à ce jour au sein de la cohorte américaine AHS sur la période 1993-2014/2015 (Lerro et coll., 2019). Ainsi la cohorte AGRICAN dispose d'une puissance statistique unique pour l'étude des liens avec les cancers en milieu agricole. L'existence de la cohorte AGRICAN au niveau international a incité tout d'abord le *National Cancer Institute* (co-porteur de la cohorte AHS) puis le Centre international de recherche sur le cancer à mettre en place un consortium international de cohortes agricoles : le consortium AGRICOH. Il comprend à ce jour 29 cohortes menées dans 12 pays, sur l'ensemble des continents (Leon et coll., 2011). Ce consortium a d'ores et déjà produit des résultats en matière d'exposition aux pesticides (Brouwer et coll., 2016 ; Brouwer et coll., 2017), de lien entre hémopathies malignes lymphoïdes et exposition à des pesticides (Leon et coll., 2019) ou à des activités d'élevage (El-Zaemey et coll., 2019), ainsi que des comparaisons de prévalences de pathologies respiratoires entre les différentes cohortes (Fix et coll., 2020).

Grâce à sa puissance statistique, la cohorte AGRICAN occupe aujourd'hui une place importante dans la recherche internationale sur la question des pesticides sur la santé mais aussi sur d'autres risques professionnels présents chez les affiliés du régime agricole. Cette population d'affiliés est très diverse, incluant autant de femmes que d'hommes, un nombre important de salariés et une diversité des secteurs de production agricole, dont certains sont plus particulièrement représentés en France ou en Europe. La cohorte offre aussi l'opportunité d'éclairer des secteurs moins investigués comme le paysagisme, le secteur du bois et forêt, la coopération agricole... Les analyses internes à la cohorte ont permis d'observer des associations positives entre toutes les cultures et tous les élevages étudiés et une ou plusieurs des 17 localisations de cancers (cancers spécifiques et sous-types histologiques). Les excès ont été associés à l'exposition directe aux pesticides sur cultures mais aussi à l'usage d'insecticides sur animaux d'élevage ou encore aux traitements de

semences, à l'exposition indirecte aux pesticides par le contact avec des végétaux. Par ailleurs des résultats ont été produits pour des tâches exposant vraisemblablement à d'autres nuisances chimiques (désinfection des bâtiments ou des machines de traite) ou à d'autres facteurs (récoltes de différentes cultures ou contact avec les animaux). Des analyses ont aussi cherché à affiner le lien entre certaines molécules pesticides en ayant une approche par famille chimique de produits, basée sur des données toxicologiques, mais sans sélection a priori de matières actives. Ceci a été rendu possible par l'utilisation de la matrice culture-exposition PESTIMAT, dont l'évolution au cours des prochaines années doit permettre d'aborder d'autres familles chimiques de pesticides utilisés sur cultures mais aussi certains pesticides utilisés en élevage. Il est en effet souhaitable que les analyses au sein de la cohorte permettent d'intégrer la complexité des usages de pesticides au cours du temps et leurs intrications. À titre d'exemple, certains insecticides carbamates comme le carbaryl par exemple ont été homologués sur de nombreuses cultures, d'autres comme le dimétilan uniquement en élevages ou encore le formétanate uniquement en arboriculture fruitière. Grâce à des méthodologies déjà employées ou en cours de développement, les analyses au sein de la cohorte intègrent la multiplicité des usages et les corrélations que celles-ci peuvent induire.

Références issues du programme AGRICAN

Baldi I, Robert C, Piantoni F, *et al.* Agricultural exposure and asthma risk in the AGRICAN French cohort. *Int J Hyg Environ Health* 2014 ; 217 : 435-42.

Boulanger M, Tual S, Lemarchand C, *et al.* Lung cancer risk and occupational exposures in crop farming: results from the AGRIculture and CANcer (AGRICAN) cohort. *Occup Environ Med* 2018 ; 75(11) : 776-85.

Boulanger M, Tual S, Lemarchand C, *et al.* Agricultural exposure and risk of bladder cancer in the AGRIculture and CANcer cohort. *Int Arch Occup Environ Health* 2017 ; 90 : 169-78.

Brouwer M, Schinasi L, Beane Freeman LE, *et al.* Assessment of occupational exposure to pesticides in a pooled analysis of agricultural cohorts within the AGRICOH consortium : authors' response. *Occup Environ Med* 2017 ; 74 : 81.

Brouwer M, Schinasi L, Beane Freeman LE, *et al.* Assessment of occupational exposure to pesticides in a pooled analysis of agricultural cohorts within the AGRICOH consortium. *Occup Environ Med* 2016 ; 73 : 359-67.

El-Zaemey S, Schinasi LH, Ferro G, *et al.* Animal farming and the risk of lympho-haematopoietic cancers : a meta-analysis of three cohort studies within the AGRICOH consortium. *Occup Environ Med* 2019 ; 76 : 827-37.

Fix J, Annesi-Maesano I, Baldi I, *et al.* Gender differences in respiratory health outcomes among farming cohorts around the globe: findings from the AGRICOH consortium. *J Agromedicine* 2020 : 1-12.

Lemarchand C, Tual S, Leveque-Morlais N, *et al.* Cancer incidence in the AGRICAN cohort study (2005-2011). *Cancer Epidemiol* 2017 ; 49 : 175-85.

Lemarchand C, Tual S, Boulanger M, *et al.* Prostate cancer risk among French farmers in the AGRICAN cohort. *Scand J Work Environ Health* 2016 ; 42 : 144-52.

Lemarchand C. *Facteurs de risque de cancers hormono-dépendants en population agricole au sein de la cohorte agriculture et cancer :* École doctorale Normande de biologie intégrative, santé, environnement (Mont-Saint-Aignan, Seine-Maritime). Caen. Thèse de Doctorat, 2015.

Leon M, Schinasi LH, Lebailly P, *et al.* Pesticide use and risk of non-Hodgkin lymphoid malignancies in agricultural cohorts from France, Norway and the USA : a pooled analysis from the AGRICOH consortium. *Int J Epidemiol* 2019 ; 48 : 1519-35.

Leon ME, Beane Freeman LE, Douwes J, *et al.* AGRICOH: a consortium of agricultural cohorts. *Int J Environ Res Public Health* 2011 ; 8 : 1341-57.

Levêque-Morlais N, Tual S, Clin B, *et al.* The AGRIculture and CANcer (AGRICAN) cohort study: enrollment and causes of death for the 2005-2009 period. *Int Arch Occup Environ Health* 2015 ; 88 : 61-73.

Piel C, Pouchieu C, Carles C, *et al.* Agricultural exposures to carbamate herbicides and fungicides and central nervous system tumour incidence in the cohort AGRICAN. *Environ Int* 2019a ; 130 : 104876.

Piel C, Pouchieu C, Migault L, *et al.* Increased risk of central nervous system tumours with carbamate insecticide use in the prospective cohort AGRICAN. *Int J Epidemiol* 2019b ; 48 : 512-26.

Piel C, Pouchieu C, Tual S, *et al.* Central nervous system tumors and agricultural exposures in the prospective cohort AGRICAN. *Int J Cancer* 2017 ; 141 : 1771-82.

Pouchieu C, Piel C, Carles C, *et al.* Pesticide use in agriculture and Parkinson's disease in the AGRICAN cohort study. *Int J Epidemiol* 2018 ; 47 : 299-310.

Tual S, Busson A, Boulanger M, *et al.* Occupational exposure to pesticides and multiple myeloma in the AGRICAN cohort. *Cancer Causes Control* 2019 ; 30 : 1243-50.

Tual S, Lemarchand C, Boulanger M, *et al.* Exposure to farm animals and risk of lung cancer in the AGRICAN cohort. *Am J Epidemiol* 2017 ; 186 : 463-72.

Tual S, Clin B, Leveque-Morlais N, *et al.* Agricultural exposures and chronic bronchitis: findings from the AGRICAN (AGRIculture and CANcer) cohort. *Ann Epidemiol* 2013 ; 23 : 539-45.

Autres références

Agopian J, Navarro J-M, Gac A-C, *et al*. Agricultural pesticide exposure and the molecular connection to lymphomagenesis. *J Exp Med* 2009 ; 206 : 1473-83.

Lerro CC, Koutros S, Andreotti G, *et al*. Cancer incidence in the Agricultural Health Study after 20 years of follow-up. *Cancer Causes Control* 2019 ; 30 : 311-22.

Roulland S, Lebailly P, Lecluse Y, *et al*. Characterization of the t(14;18) BCL2-IGH translocation in farmers occupationally exposed to pesticides. *Cancer Res* 2004 ; 64 : 2264-9.

Cancer du poumon

Danièle Luce
Irset, Inserm UMR-S 1085, Pointe-à-Pitre

Le cancer du poumon est la première cause de décès par cancer en France et dans le monde (Bray et coll., 2018). En France, en 2018, les taux d'incidence standardisés sur l'âge (population mondiale) pour 100 000 étaient de 50,5 chez les hommes et de 23,2 chez les femmes (Defossez et coll., 2019). Avec 46 363 nouveaux cas par an, dont 67 % chez les hommes, le cancer du poumon est par ordre de fréquence le deuxième cancer chez les hommes et le troisième chez les femmes. Le pronostic est péjoratif, avec une survie nette standardisée à 5 ans de l'ordre de 15 % (Cowppli-Bony et coll., 2016). Les principaux types histologiques sont les adénocarcinomes, les carcinomes épidermoïdes et les cancers à petites cellules, qui représentent en France environ 53 %, 19 % et 11 % des cancers broncho-pulmonaires respectivement.

Le tabac est le facteur de risque majeur, et la proportion de cas de cancer du poumon attribuables au tabac dans les pays occidentaux est de l'ordre de 90 % (IARC, 2004). De nombreux autres cancérogènes pulmonaires ont cependant été identifiés, souvent présents en milieu de travail, comme l'amiante, la silice cristalline, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les gaz d'échappement diesel, les fumées de soudage, les composés du nickel et du chrome (Delva et coll., 2017). La pollution atmosphérique est également reconnue comme une cause de cancer du poumon (IARC, 2016). Concernant les pesticides, l'arsenic et ses composés inorganiques sont classés par le Circ comme cancérogènes pulmonaires certains. L'application et la pulvérisation d'insecticides non arsenicaux (IARC, 1991) et le diazinon (IARC, 2017) sont classés comme des cancérogènes probables, avec pour organe cible le poumon.

Depuis les années 90, l'incidence est globalement stable en France chez les hommes et en augmentation chez les femmes. Ces tendances temporelles sont majoritairement liées à l'évolution de la consommation de tabac. L'apparente stabilité de l'incidence chez les hommes masque cependant des évolutions différentes des principaux types histologiques, avec une augmentation de l'incidence des adénocarcinomes et une baisse de l'incidence des carcinomes épidermoïdes et des carcinomes à petites cellules. Cette augmentation de l'incidence des adénocarcinomes est observée dans la plupart des pays, et

pourrait refléter des changements dans le type et la composition des cigarettes (Lortet-Tieulent et coll., 2014). D'autres facteurs pourraient être impliqués, mais peu d'études ont évalué l'impact de facteurs professionnels ou environnementaux sur le risque des différents types histologiques de cancer du poumon.

Les données épidémiologiques sur le lien entre exposition aux pesticides et cancer du poumon sont présentées ci-dessous en deux parties principales : études portant sur les pesticides dans leur ensemble, sans distinction de type ; études portant sur des familles de pesticides ou des substances actives.

Les méta-analyses, les études de cohorte prospectives ou historiques et les études cas-témoins portant sur la mortalité ou l'incidence du cancer du poumon ont été prises en compte. Pour les études de cohorte ayant fait l'objet de plusieurs suivis, la mise à jour la plus récente a été retenue. Lorsque dans une étude des données étaient disponibles à la fois pour l'incidence et la mortalité, les résultats sur l'incidence ont été privilégiés. Les études présentant des résultats pour l'ensemble des cancers respiratoires (cavités naso-sinusiennes, larynx, poumon, plèvre) et les études de mortalité ou d'incidence proportionnelle n'ont pas été analysées.

Cancer du poumon et pesticides, tous types confondus

Dans cette section sont d'abord présentées les études en milieu agricole, portant sur les travailleurs du secteur agricole en général et sur certaines tâches ou activités, puis les études portant sur des travailleurs de la production de pesticides.

Études en milieu agricole

Travailleurs de l'agriculture

Un risque de cancer du poumon plus faible que celui de la population générale est observé de façon constante dans les populations de travailleurs du secteur agricole. La dernière méta-analyse (Acquavella et coll., 1998), datant de 1998 et portant sur 29 études, a mis en évidence un méta-RR de 0,65 ; IC 95 % [0,58-0,75], avec cependant une forte hétérogénéité entre études ($p < 10^{-5}$).

Ce risque de cancer du poumon significativement diminué chez les agriculteurs et travailleurs agricoles est confirmé dans les études de cohorte postérieures à cette méta-analyse, en particulier dans plusieurs larges études.

L'évaluation la plus récente de l'incidence des cancers dans l'*Agricultural Health Study* (AHS), portant sur 20 ans de suivi et 1 110 cancers du poumon, retrouve des SIR significativement inférieurs à 1 pour les applicateurs exploitants (SIR = 0,51 ; IC 95 % [0,48-0,55]), les applicateurs professionnels (SIR = 0,67 ; IC 95 % [0,50-0,88]) et les conjoints SIR = 0,41 ; IC 95 % [0,36-0,46]) (Lerro et coll., 2019). Dans la cohorte AGRICAN, une première analyse de l'incidence des cancers, incluant 775 cancers du poumon, a également montré des SIR significativement inférieurs à 1 chez les hommes (SIR = 0,58 ; IC 95 % [0,54-0,63]) comme chez les femmes (SIR = 0,66 ; IC 95 % [0,56-0,77]) (Lemarchand et coll., 2017). Le déficit de cancer du poumon était légèrement plus marqué chez les exploitants agricoles, mais variait peu en fonction de l'utilisation ou non de pesticides. Dans une étude portant sur 15 millions de personnes des 5 pays nordiques (Pukkala et coll., 2009), des déficits significatifs de cancer du poumon ont été observés chez les agriculteurs (hommes : SIR = 0,56 ; IC 95 % [0,55-0,57] ; femmes : SIR = 0,46 ; IC 95 % [0,44-0,49]) et chez les jardiniers (hommes : SIR = 0,68 ; IC 95 % [0,66-0,71] ; femmes : SIR = 0,54 ; IC 95 % [0,51-0,58]). Dans une cohorte canadienne de plus de deux millions d'actifs (Kachuri et coll., 2017), les 70 570 travailleurs de l'agriculture, comparés aux travailleurs des autres secteurs, présentaient des risques de cancer du poumon significativement diminués (hommes : HR = 0,75 ; IC 95 % [0,70-0,80] ; femmes : HR = 0,58 ; IC 95 % [0,50-0,66]), retrouvés à la fois dans l'élevage et dans les cultures, et chez les hommes moins marqués chez les salariés que chez les exploitants. La mortalité des travailleurs agricoles a également été comparée à la mortalité des autres travailleurs dans une cohorte de 15 millions d'actifs en Espagne (Zhao et coll., 2019), en calculant des rapports de taux de mortalité standardisés (MRR, *mortality rate ratio*). Pour le cancer du poumon, le rapport de taux était significativement inférieur à 1 chez les femmes (MRR = 0,56 ; IC 95 % [0,46-0,67]) mais proche de 1 (MRR = 0,98 ; IC 95 % [0,94-1,02]) chez les hommes. Une analyse similaire dans une région agricole du Nord de l'Italie a mis en évidence des rapports de taux de mortalité standardisés inférieurs à 1 chez les hommes (MRR = 0,63 ; IC 95 % [0,56-0,66]) (Bucchi et coll., 2004) comme chez les femmes (MRR = 0,80 IC 95 % [0,60-1,06]) (Nanni et coll., 2005). Des SIR significativement inférieurs à 1 ont également été observés chez les utilisateurs de pesticides agricoles au Royaume-Uni (Frost et coll., 2011) (hommes : SIR = 0,51 ; IC 95 % [0,43-0,51] ; femmes SIR = 0,31 ; IC 95 % [0,04-2,19]), et chez les hommes exposés aux pesticides, majoritairement des agriculteurs, en Australie (SIR = 0,52 ; IC 95 % [0,41-0,65]) (MacFarlane et coll., 2010).

Les trois cohortes qui présentent des résultats en fonction du type histologique retrouvent des SIR inférieurs à 1 pour tous les types histologiques (Pukkala et coll., 2009 ; Lemarchand et coll., 2017 ; Lerro et coll., 2019).

Ce risque diminué de cancer du poumon dans les populations agricoles s'explique en grande partie par leur consommation de tabac relativement faible. En effet, dans la plupart des pays industrialisés, les agriculteurs fument moins que la population générale. C'est le cas en France, avec dans le secteur de l'agriculture 21 % de fumeurs chez les hommes et 9 % de fumeuses chez les femmes, contre respectivement 29 % et 19 % dans la population générale (Lauzeille et coll., 2009). La proportion de fumeurs dans les cohortes AHS (Lerro et coll., 2019) et AGRICAN (Lemarchand et coll., 2017) est également inférieure à celle de la population générale. Dans la cohorte de 15 millions de personnes des pays nordiques (Pukkala et coll., 2009), une étude complémentaire réalisée dans la composante norvégienne montre qu'après un ajustement indirect sur le tabac à partir de données externes, les SIR chez les hommes passent de 0,42 à 0,93 (IC 95 % [0,9-1,0]) chez les agriculteurs, et de 0,69 à 1,54 (IC 95 % [1,3-1,8]) chez les jardiniers. En revanche, en Espagne, si les agricultrices sont moins souvent fumeuses que les femmes d'autres secteurs, les agriculteurs sont plus souvent fumeurs que les non-agriculteurs, ce qui est reflété dans les résultats de la cohorte espagnole (Zhao et coll., 2019).

Les études estimant le risque de cancer du poumon chez les travailleurs de l'agriculture après ajustement sur la consommation de tabac observent en général des risques augmentés, parfois de façon significative (tableau I, voir en fin de cette communication). Dans une cohorte prospective européenne portant sur plus de 200 000 participants, une analyse sur les associations entre profession et cancer du poumon a mis en évidence un HR de 1,45 ; IC 95 % [1,1-1,9] chez les travailleurs agricoles (Veglia et coll., 2007). Dans une étude cas-cohorte au sein d'une cohorte néerlandaise en population générale, portant sur 1 920 cas de cancers du poumon masculin et une sous-cohorte de 2 251 hommes, les RR de cancer du poumon pour les ouvriers de l'agriculture étaient de 1,10 ; IC 95 % [0,72-1,68] pour une durée d'emploi inférieure à 15 ans et de 1,07 ; IC 95 % [0,64-1,79] pour une durée de 15 ans ou plus (Preller et coll., 2008). Un risque non significativement augmenté de décès par cancer du poumon chez les travailleurs agricoles a également été observé dans une cohorte américaine de 143 863 travailleurs, représentative au niveau national, avec un HR de 1,19 ; IC 95 % [0,74-1,89] (Lee et coll., 2006a). Dans les études cas-témoins qui ont examiné le risque de cancer du poumon chez les agriculteurs ou dans l'agriculture, les OR ajustés sur le tabac sont significativement supérieurs à 1 dans 5 études (Levin et coll., 1988 ;

Jöckel et coll., 1992 ; Pezzotto et Poletto, 1999 ; Brüske-Hohlfeld et coll., 2000 ; Bardin-Mikolajczak et coll., 2007), non significativement supérieurs à 1 dans 6 études (de Stefani et coll., 1996 ; Jahn et coll., 1999 ; Settimi et coll., 1999 ; Matos et coll., 2000 ; Settimi et coll., 2001 ; Corbin et coll., 2011) et seules trois études ont rapporté des risques légèrement diminués à la limite de la significativité statistique (Zahm et coll., 1989 ; Fincham et coll., 1992 ; Mac-Arthur et coll., 2009). Quatre études ont également évalué le risque de cancer du poumon associé à l'exposition aux pesticides en général (Chan-Yeung et coll., 2003 ; Lee et coll., 2006b ; McHugh et coll., 2010 ; Ganesh et coll., 2011), avec des OR ajustés sur le tabac significativement augmentés pour trois d'entre elles (Chan-Yeung et coll., 2003 ; McHugh et coll., 2010 ; Ganesh et coll., 2011).

Un autre facteur contribuant à un risque faible de cancer du poumon dans l'agriculture est l'exposition aux endotoxines. Les endotoxines sont des composants de la paroi des bactéries Gram négatif, et sont libérées lors de la lyse de ces bactéries. Elles sont présentes à des niveaux élevés dans l'agriculture, particulièrement dans l'élevage et dans les activités exposant aux poussières de grains. L'exposition aux endotoxines a été associée à une diminution du risque de cancer du poumon (Lenters et coll., 2010 ; Ben Khedher et coll., 2017).

Dans la cohorte AHS, le SIR pour le cancer du poumon a été recalculé en stratifiant sur la consommation de tabac et sur l'exposition aux endotoxines, évaluée à partir des activités exposantes à l'inclusion (travail des grains et contact avec les animaux). Chez les applicateurs exploitants, le SIR était de 1,15 ; IC 95 % [1,01-1,30] chez les fumeurs non exposés aux endotoxines, et de 0,74 ; IC 95 % [0,67-0,81] chez les fumeurs exposés aux endotoxines. Des résultats similaires étaient retrouvés chez les conjoints (Lerro et coll., 2019). Ces résultats suggèrent que l'exposition aux endotoxines participerait au faible risque de cancer du poumon observé dans cette cohorte. Les deux cohortes AGRICAN et AHS mettent par ailleurs en évidence des risques diminués de cancer du poumon dans l'élevage, et un risque diminué de cancer du poumon a été observé dans la cohorte AGRICAN chez les cultivateurs de maïs et de blé/orge (voir ci-dessous).

Tâches/activités en milieu agricole

Plusieurs études ont évalué les associations entre risque de cancer du poumon et différentes tâches ou activités en milieu agricole, avec ajustement sur la consommation de tabac.

L'élevage est en général associé à des risques diminués, reflétant possiblement un effet protecteur de l'exposition aux endotoxines, avec cependant des résultats peu cohérents sur le rôle du type d'élevage (bovins, volaille ou autres).

Dans une cohorte de 2 561 éleveurs laitiers en Italie, le SMR pour le cancer du poumon était de 0,64 ; IC 95 % [0,51-0,81], et diminuait avec le nombre d'animaux. Une étude cas-témoins nichée dans la cohorte a confirmé ces résultats, les OR ajustés sur le tabac diminuant significativement avec le nombre d'animaux ($p < 0,001$) (Mastrangelo et coll., 2005).

Dans la cohorte AHS, le risque de cancer a été étudié en fonction des activités d'élevage au moment de l'inclusion (Beane Freeman et coll., 2012). L'élevage de volailles était associé à un risque significativement diminué de cancer du poumon (RR = 0,63 ; IC 95 % [0,4-0,97]). Aucune association significative n'était observée avec l'élevage d'autres animaux : bovins (RR = 1,0 ; IC 95 % [0,8-1,2]), porcins (RR = 1,0 ; IC 95 % [0,8-1,3]), ovins (RR = 0,7 ; IC 95 % [0,3-1,7]). Le risque de cancer du poumon diminuait significativement avec le nombre de têtes de bétail (p de tendance = 0,04), avec un RR de 0,5 ; IC 95 % [0,3-1,0] pour 1 000 têtes ou plus. Le nombre de têtes par type d'animal et la durée d'exposition n'étaient pas disponibles.

Le risque de cancer du poumon dans l'élevage a été examiné en détail dans la cohorte AGRICAN (Tual et coll., 2017). L'élevage de bovins était associé à un risque significativement diminué (HR = 0,72 ; IC 95 % [0,58-0,90]), le risque diminuant avec la durée d'exposition (p de tendance < 0,01). Une association négative avec la durée d'exposition était également observée pour l'élevage de chevaux (p de tendance = 0,09). Aucune relation significative avec la durée d'exposition n'était observée pour l'élevage d'autres animaux (volaille, porcs, moutons, chèvres). Cependant, pour l'élevage de porcs, le risque de cancer du poumon augmentait significativement avec le nombre d'animaux (p de tendance = 0,03), et l'utilisation d'insecticides était associée à un risque significativement augmenté de carcinome épidermoïde seulement (HR = 1,85 ; IC 95 % [1,01-3,39]).

Une étude cas-témoins en France a également mis en évidence un risque diminué de cancer du poumon dans l'élevage (Guida et coll., 2011). Deux autres études cas-témoins présentent des résultats contrastés, avec en Nouvelle-Zélande un risque de cancer du poumon diminué chez les éleveurs de bétail polyvalents mais augmenté chez les éleveurs de bovins (Corbin et coll., 2011), et en Allemagne un risque augmenté chez les éleveurs d'animaux et les producteurs de lait (Brüske-Hohlfeld et coll., 2000).

Une autre analyse au sein de la cohorte AGRICAN a permis d'évaluer le risque de cancer du poumon pour différentes activités et tâches associées à

diverses cultures (Boulanger et coll., 2018). Des risques diminués de cancer du poumon, et une association inverse significative avec la durée d'exposition ont été observés pour les cultures de maïs (HR = 0,76 ; IC 95 % [0,62-0,92] ; p de tendance = 0,01) et de blé/orge (HR = 0,85 ; IC 95 % [0,70-1,04] ; p de tendance = 0,05). Les cultivateurs de céréales peuvent être exposés à des niveaux élevés d'endotoxines, ce qui pourrait en partie expliquer ces résultats. La viticulture était associée à un risque élevé d'adénocarcinome uniquement (HR = 1,27 ; IC 95 % [0,94-1,72]). Un risque élevé de carcinome à petites cellules, augmentant avec la durée d'exposition a été observé chez les cultivateurs de pois fourragers (HR = 1,56 ; IC 95 % [0,74-3,31] ; p de tendance = 0,04), particulièrement ceux qui utilisaient des pesticides (HR = 2,38 ; IC 95 % [1,07-5,28]). Des associations positives ont également été observées entre carcinome épidermoïde et culture de tournesol (HR = 1,59 ; IC 95 % [0,97-2,62]), taille dans l'arboriculture (HR = 1,44 ; IC 95 % [0,92-2,27]), et utilisation de pesticides dans la culture de la betterave (HR = 1,47 ; IC 95 % [0,92-2,34]).

Le risque de cancer du poumon associé à certaines cultures spécifiques a été également évalué dans plusieurs études cas-témoins, mais les activités ou professions sont regroupées de façon différente d'une étude à l'autre, et les résultats sont difficilement comparables. Un risque significativement augmenté a été rapporté dans l'horticulture (Brüske-Hohlfeld et coll., 2000). Des augmentations non significatives de risque ont aussi été observées chez les viticulteurs (Settimi et coll., 1999 ; Corbin et coll., 2011 ; Guida et coll., 2011), les jardiniers et viticulteurs (Jahn et coll., 1999), les arboriculteurs (Settimi et coll., 1999 ; Guida et coll., 2011), les arboriculteurs et viticulteurs (Jöckel et coll., 1992), les arboriculteurs et maraîchers (Brüske-Hohlfeld et coll., 2000). Un risque élevé de cancer du poumon a également été observé dans la culture de la canne à sucre (Amre et coll., 1999), attribué cependant à la présence dans les feuilles de canne à sucre de fibres de silice biogéniques plutôt qu'à l'utilisation de pesticides. Aucune de ces études ne présente de résultat en fonction du type histologique.

Production de pesticides

Dans une méta-analyse portant sur 32 études de cohortes de travailleurs de la production de phytosanitaires, Jones et coll. (2009) ont observé une augmentation significative du risque de décès par cancer du poumon (méta-SMR = 1,22 ; IC 95 % [1,05-1,41]), avec cependant une forte hétérogénéité entre études (p = 0,03). L'examen des sources d'hétérogénéité par méta-régression met en évidence une association positive avec la proportion de

perdus de vus, et une association négative avec la durée de suivi et avec la proportion d'hommes, cette dernière association étant reflétée par un méta-SMR plus élevé chez les femmes (méta-SMR = 2,49 ; IC 95 % [1,37-4,53]) que chez les hommes (méta-SMR = 1,20 ; IC 95 % [1,03-1,40]). Les travailleurs de ces cohortes étaient de plus exposés à une grande variété de pesticides (phénoxyherbicides, organochlorés, organophosphorés, arsenicaux). Les résultats de certaines cohortes ou groupes de cohortes sont décrits ci-dessous dans la section sur les familles de pesticides.

Aucune cohorte ne disposait de données sur la consommation de tabac. Dans cette méta-analyse, des excès significatifs de décès sont aussi observés pour les cancers des voies aéro-digestives supérieures, fortement associés au tabac. Cependant, des déficits étaient observés pour les décès par maladie cardio-vasculaire et maladie respiratoire non maligne, et il est peu vraisemblable que l'effet de confusion du tabac explique entièrement les résultats pour le cancer du poumon.

Familles de pesticides/substances actives

Les études permettant d'évaluer le lien entre cancer du poumon et des familles de pesticides ou des substances actives sont peu nombreuses. Les données disponibles proviennent très majoritairement de l'*Agricultural Health Study*. Les études au sein de la cohorte AHS ont porté principalement sur les applicateurs (exploitants ou commerciaux) et ont examiné plus de 40 substances actives. Une étude a également évalué le risque de cancer associé à l'utilisation personnelle d'insecticides organochlorés des épouses des applicateurs exploitants, étude limitée cependant par le faible nombre de cas de cancer du poumon exposés. Toutes les analyses au sein de la cohorte AHS sont ajustées sur la consommation de tabac de façon détaillée, et de nombreux autres facteurs de confusion potentiels ont été évalués et pris en compte si nécessaire (autres pesticides, niveau d'étude, région, antécédents familiaux de cancer, élevage...). Les principaux résultats de la cohorte AHS, dans le suivi le plus récent, sont présentés dans le tableau II (associations positives) (voir en fin de cette communication) et le tableau III (associations négatives ou absence d'associations) (voir en fin de cette communication).

En dehors de la cohorte AHS, les informations disponibles proviennent d'une méta-analyse et d'une étude internationale sur les phénoxyherbicides et chlorophénols, de quelques cohortes historiques professionnelles et de deux études cas-témoins, une étude cas-témoins en Uruguay et une petite étude cas-témoins nichée dans une cohorte d'applicateurs de pesticides en Floride. À noter que

seules les études cas-témoins comportaient un ajustement sur le tabac, avec en revanche une évaluation des expositions assez sommaire.

L'arsenic est un cancérogène pulmonaire reconnu et les études sur le lien entre exposition à l'arsenic et/ou à ses composés ne seront pas détaillées ici. L'exposition aux pesticides arsenicaux a été associée à des risques élevés de cancer du poumon dans des études anciennes de travailleurs de la production ou de la viticulture (IARC, 2012). Aucune étude récente n'a spécifiquement évalué le rôle des pesticides arsenicaux dans la survenue du cancer du poumon.

Herbicides

Phénoxyherbicides et chlorophénols

Plusieurs études ont concerné des travailleurs exposés aux phénoxyherbicides, aux chlorophénols et à leurs contaminants (furanes et dioxines), sans qu'il soit en général possible de distinguer les effets des différentes substances.

Dans la méta-analyse de Jones et coll. (2009), une analyse limitée aux 20 cohortes de production de phénoxyherbicides a mis en évidence un excès de décès par cancer du poumon (méta-SMR = 1,28 ; IC 95 % [1,08-1,52]), sans hétérogénéité significative entre les études (p = 0,252). En revanche, dans une étude internationale du Circ combinant 36 cohortes de travailleurs de la production ou de l'application de phénoxyherbicides ou chlorophénols dans 12 pays (Kogevinas et coll., 1997), le SMR pour le cancer du poumon était de 1,09 ; IC 95 % [0,98-1,20]. Cette légère augmentation non significative était de plus limitée aux travailleurs également exposés aux dioxines, en particulier à la TCDD (SMR = 1,12 ; IC 95 % [0,98-1,28]). Dans le groupe considéré comme non exposé aux dioxines, le SMR était de 1,03 ; IC 95 % [0,87-1,21], et aucune relation n'était observée avec la durée d'exposition ou le temps écoulé depuis le début de l'exposition. À noter qu'une partie des cohortes de cette étude sont incluses dans la méta-analyse de Jones et coll.

Certaines cohortes incluses dans l'étude internationale du Circ et/ou la méta-analyse de Jones et coll. ont fait l'objet de mises à jour et les résultats ne sont globalement pas en faveur d'un risque augmenté de cancer du poumon. La cohorte néerlandaise ne retrouve pas dans le dernier suivi l'excès de décès par cancer du poumon mis initialement en évidence (Boers et coll., 2010). Le suivi de la mortalité dans la cohorte néo-zélandaise, fortement exposée aux dioxines, met en évidence une mortalité par cancer du poumon non significativement élevée chez les travailleurs de la production, et diminuée

chez ceux de la pulvérisation (Mannetje et coll., 2005). Aucun excès de cancer du poumon n'est observé dans la dernière mise à jour de la cohorte danoise (Lynge, 1998), exposée principalement au 2,4 D et/ou MCPA. Le suivi de l'incidence d'une cohorte américaine de la fabrication, formulation et empaquetage de 2,4 D (Burns et coll., 2011) ne met pas non plus en évidence de risque élevé de cancer du poumon.

Trois études de cohortes ont permis d'évaluer le risque de cancer du poumon chez des travailleurs exposés au pentachlorophénol, peu contaminé par la TCDD (Demers et coll., 2006 ; Collins et coll., 2009 ; Ruder et Yiin, 2011). Dans deux études de mortalité de travailleurs de la production aux USA, il a été possible d'identifier une sous-cohorte de travailleurs exposés au pentachlorophénol seulement, avec un risque de décès par cancer du poumon significativement augmenté dans une de ces études (SMR = 1,56 ; IC 95 % [1,27-1,9]) (Ruder et Yiin, 2011), mais pas dans l'autre (SMR = 1,1 ; IC 95 % [0,7-1,6]) (Collins et coll., 2009). Dans une cohorte canadienne de 25 685 travailleurs de scieries, exposés au pentachlorophénol et au tétrachlorophénol (Demers et coll., 2006), le SIR pour le cancer du poumon était de 1,02 ; IC 95 % [0,93-1,11]. Dans les analyses internes, aucune relation dose-réponse n'était observée avec les niveaux cumulés d'exposition au pentachlorophénol (p = 0,45) ou au tétrachlorophénol (p = 0,20).

Dans la cohorte AHS, le risque de cancer du poumon a été examiné en fonction de l'exposition au 2,4 D et au 2,4,5 T (Bonner et coll., 2017). Un RR augmenté (RR = 1,47 ; IC 95 % [0,86-2,51]) mais non significatif a été observé dans le dernier quartile d'exposition cumulée pour le 2,4,5 T mais sans relation dose-réponse monotone (p = 0,939). Aucune association n'a été mise en évidence avec le 2,4 D.

Une première analyse au sein de la cohorte AHS avait suggéré une association entre exposition au dicamba et cancer du poumon (Alavanja et coll., 2004). Cette association n'est pas retrouvée dans l'évaluation la plus récente (Lerro et coll., 2020). Les RR sont inférieurs à 1 dans toutes les catégories d'exposition et aucune tendance n'est observée avec l'exposition cumulée (p = 0,22). Des résultats similaires sont observés pour les principaux types histologiques (adénocarcinomes, carcinomes épidermoïdes, cancers à petites cellules).

Triazines

Dans une étude de cohorte portant sur 5 774 travailleurs de deux usines de la production de triazines aux USA (Louisiane et Alabama), une mortalité par cancer du poumon significativement augmentée a été observée

uniquement chez les travailleurs classés comme possiblement exposés aux triazines (SMR = 1,53 ; IC 95 % [1,02-2,20]), aucun excès de décès par cancer du poumon n'étant observé pour les expositions probables ou certaines (10 décès observés *versus* 12 attendus) (Sathiakumar et coll., 1996). La mise à jour de la mortalité (MacLennan et coll., 2003) et de l'incidence (MacLennan et coll., 2002) dans l'usine de Louisiane n'ont pas mis en évidence d'excès de cancer du poumon.

Dans la cohorte AHS (Bonner et coll., 2017), aucune association n'a été mise en évidence entre le risque de cancer du poumon et l'exposition à l'atrazine, la cyanazine ou la métribuzine.

Chloroacétamides

Une étude de cohorte dans une usine de production d'alachlore aux USA (Acquavella et coll., 2004) n'a pas mis en évidence d'excès de cancer du poumon chez les travailleurs exposés (SIR = 0,45 ; IC 95 % [0,05-1,62], 2 cas) ou fortement exposés (SIR = 0,50 ; IC 95 % [0,06-1,81], 2 cas) à l'alachlore. Cette cohorte jeune et de petite taille est cependant peu informative.

Dans la cohorte AHS, aucune association n'a été observée entre risque de cancer du poumon et exposition à l'alachlore (Lerro et coll., 2018) ou au métolachlore (Silver et coll., 2015). En revanche, l'exposition à l'acétochlore est associée à un risque de cancer du poumon significativement augmenté (RR = 1,74 ; IC 95 % [1,07-1,84]) (Lerro et coll., 2015), avec cependant un RR plus élevé pour les expositions faibles (RR = 2,26 ; IC 95 % [1,24-4,14]) que pour les expositions fortes (RR = 1,47 ; IC 95 % [0,68-3,16]). Dans la cohorte AHS, l'acétochlore a souvent été appliqué en mélange avec l'atrazine. Comparativement aux participants n'ayant utilisé ni acétochlore ni atrazine, le RR était de 1,32 [0,93-1,88] pour l'application exclusive d'atrazine, de 1,96 [0,70-5,45] pour l'application exclusive d'acétochlore et de 2,33 [1,30-4,17] pour l'application d'atrazine et acétochlore en mélange.

Autres herbicides

Dans la cohorte AHS, des associations entre risque du cancer du poumon et utilisation de chlorimuron-éthyle et de pendiméthaline ont été suggérées (Bonner et coll., 2017). Des risques élevés ont été observés dans le dernier quartile d'exposition cumulée (chlorimuron-éthyle : HR = 1,69 ; IC 95 % [1,00-2,83] ; pendiméthaline : HR = 1,47 ; IC 95 % [0,93-2,31]), mais sans relation exposition-réponse monotone (chlorimuron-éthyle : p = 0,294 ; pendiméthaline : p = 0,251). L'association avec la pendiméthaline est limitée aux adénocarcinomes, alors que l'association avec le chlorimuron-éthyle n'est

retrouvée que pour les autres types histologiques regroupés (non-adénocarcinomes). Aucune autre étude n'a examiné ces herbicides en lien avec le cancer du poumon. Les autres herbicides étudiés dans la cohorte AHS n'étaient pas associés au risque de cancer du poumon.

Insecticides

Organochlorés

- ***DDT***

Dans une étude cas-témoins sur le cancer du poumon en Uruguay (de Stefani et coll., 1996), l'exposition au DDT est associée à un OR de 1,7 (IC 95 % [1,0-2,8]), qui augmente avec la durée d'exposition (OR = 2,0 ; IC 95 % [0,9-4,7] pour plus de 20 ans). L'analyse par type histologique a mis en évidence des OR de 1,3 ; IC 95 % [0,7-2,3] pour les carcinomes épidermoïdes, de 2,3 ; IC 95 % [1,2-4,7] pour les adénocarcinomes et de 3,6 ; IC 95 % [1,5-8,9] pour les cancers à petites cellules.

Dans la cohorte AHS (Bonner et coll., 2017), un risque élevé de cancer du poumon a été observé pour le dernier quartile d'exposition cumulée au DDT (HR = 1,46 ; IC 95 % [0,95-2,25]), mais le test de tendance n'est pas significatif (p = 0,506). L'analyse par type histologique suggère une association plus marquée pour les adénocarcinomes : les HR associés à des durées d'exposition supérieures à la médiane sont de 1,52 ; IC 95 % [0,82-2,84] pour les adénocarcinomes et de 1,1 ; IC 95 % [0,73-1,69] pour les autres types histologiques regroupés. Aucune association n'a été observée chez les épouses d'applicateurs exploitants qui avaient elles-mêmes utilisé du DDT (HR = 0,84 ; IC 95 % [0,44-1,59]) (Louis et coll., 2017).

L'association entre exposition au DDT et cancer du poumon a également été examinée dans une étude cas-témoins nichée dans une cohorte d'applicateurs en Floride (Pesatori et coll., 1994), qui a mis en évidence un OR de 2,6 ; IC 95 % [0,5-14,3] basé sur 5 cas exposés.

Dans une cohorte de 4 552 hommes employés dans des campagnes de démoustication en Sardaigne (Cocco et coll., 2005), la mortalité par cancer du poumon chez les exposés au DDT était inférieure à celle de la population générale, et le risque de décès par cancer du poumon diminuait avec le niveau d'exposition estimé au DDT ($p < 0,01$). Des éléments indirects, notamment une mortalité plus faible pour d'autres causes liées au tabac, suggèrent une consommation de tabac plus faible chez les exposés au DDT, mais aucune information n'était disponible au niveau individuel.

- ***Lindane***

Dans une cohorte d'éleveurs de moutons exposés au lindane en Islande (Rafnsson, 2006), l'incidence du cancer du poumon était inférieure à celle de la population générale, chez les hommes (SIR = 0,54 ; IC 95 % [0,46-0,54]) comme chez les femmes (SIR = 0,77 ; IC 95 % [0,33-1,52]).

Dans la cohorte AHS, une première analyse (Purdue et coll., 2006) avait mis en évidence un risque de cancer du poumon significativement augmenté chez les exposés au lindane (RR = 1,5 ; IC 95 % [1,1-2,2]). Dans la dernière mise à jour (Bonner et coll., 2017), le HR est non significativement augmenté dans le dernier quartile d'exposition cumulée (HR = 1,60 ; IC 95 % [0,82-3,14]), mais sans tendance significative (p = 0,754). Parmi les épouses des applicateurs exploitants, seulement deux cas de cancer du poumon avaient utilisé le lindane (Louis et coll., 2017).

- ***Aldrine et dieldrine***

Une mortalité par cancer du poumon significativement inférieure à celle de la population générale (SMR = 0,63 ; IC 95 % [0,41-0,92]) a été observée dans une cohorte de la production d'aldrine et dieldrine (van Amelsvoort et coll., 2009). Ce risque diminué de décès par cancer du poumon était retrouvé pour tous les niveaux d'imprégnation, estimés à partir de dosages sanguins de la dieldrine sur un sous-ensemble de la cohorte : faible (SMR = 0,67), modéré (SMR = 0,86), élevé (SMR = 0,42). Aucune association n'a été mise en évidence dans une étude cas-témoins en Uruguay (OR = 1,1 ; IC 95 % [0,5-2,0]) (de Stefani et coll., 1996). Dans la cohorte AHS (Bonner et coll., 2017), un risque élevé de cancer du poumon a été observé dans la catégorie d'exposition cumulée la plus élevée à la dieldrine (HR = 2,06 ; IC 95 % [0,95-4,43]), mais sans gradient dose-réponse significatif (p = 0,88). Aucune association n'a été observée avec l'aldrine. Chez les épouses des exploitants, le faible nombre de cas exposés (2 à la dieldrine et 2 à l'aldrine) ne permettait pas d'analyse (Louis et coll., 2017).

- ***Chlordane et heptachlore***

La mortalité par cancer du poumon a été étudiée dans une cohorte d'applicateurs de pesticides (MacMahon et coll., 1988), et aucun excès n'a été observé dans le sous-groupe des opérateurs de contrôle des termites, exposés majoritairement au chlordane et à l'heptachlore (SMR = 1,0 ; IC 90 % [0,7-1,3]). Une étude cas-témoins nichée dans une cohorte d'applicateurs en Floride (Pesatori et coll., 1994) a rapporté un OR de 1,2 (IC 95 % [0,4-3,8]) associé à l'exposition au chlordane. Dans la cohorte AHS, un risque élevé de cancer du poumon a été observé pour le chlordane dans la catégorie

d'exposition cumulée la plus faible (HR = 1,64 ; IC 95 % [0,99-2,70]), sans tendance significative (p = 0,403), et aucune association n'a été observée avec l'exposition à l'heptachlore (Bonner et coll., 2017). L'exposition au chlordane n'était pas associée au risque de cancer du poumon chez les épouses des applicateurs exploitants (RR = 0,90 ; IC 95 % [0,47-1,71]) et un seul cas avait été exposé à l'heptachlore (Louis et coll., 2017).

- ***Toxaphène***

Dans la cohorte AHS, une association positive entre risque de cancer du poumon et exposition au toxaphène a été observée chez les épouses des exploitants (RR = 2,13 ; IC 95 % [0,87-5,21]) (Louis et coll., 2017). Chez les applicateurs (Bonner et coll., 2017), les HR étaient non significativement supérieurs à 1 dans toutes les catégories d'exposition, mais sans tendance significative (p = 0,734).

Insecticides organophosphorés

Dans la cohorte AHS (Bonner et coll., 2017), un risque de cancer élevé de cancer du poumon a été observé dans le dernier quartile d'exposition cumulée au malathion (HR = 1,37 ; IC 95 % [0,94-2,00]). Les HR augmentent régulièrement entre le premier et le dernier quartile, mais la tendance n'est cependant pas significative (p = 0,197). Dans l'analyse par type histologique, l'association semble limitée aux non-adénocarcinomes, avec une tendance significative pour la durée d'exposition (p = 0,041).

Dans la même étude, des risques de cancer du poumon non significativement élevés ont été observés dans toutes les catégories d'exposition au parathion. Le risque augmentait significativement avec le niveau d'exposition cumulée (p = 0,049), et une tendance similaire était observée pour la durée d'exposition (p = 0,073). Le nombre relativement faible de cas exposés (35 cas) n'a pas permis d'analyse par type histologique.

Une association significative entre exposition au diazinon et risque de cancer du poumon a été mise en évidence dans l'AHS (Jones et coll., 2015), avec des risques augmentés dans les catégories les plus élevées de durée d'exposition (RR = 1,60 ; IC 95 % [1,11-2,31]) et d'exposition cumulée (RR = 1,41 ; IC 95 % [0,98-2,04]) et une relation dose-effet significative pour la durée (p = 0,02) et à la limite de la significativité pour l'exposition cumulée (p = 0,08). Les principaux types histologiques ont fait l'objet d'une analyse séparée. Aucune association n'a été mise en évidence pour les carcinomes épidermoïdes. Pour les autres types histologiques (adénocarcinomes, cancers à petites cellules et autres), les résultats sont globalement similaires à ceux observés pour l'ensemble des cancers du poumon.

Les autres insecticides organophosphorés étudiés dans la cohorte AHS ne sont pas associés au risque de cancer du poumon. En particulier, l'association avec l'exposition au chlorpyrifos, suggérée par une première analyse (Alavanja et coll., 2004), n'est pas confirmée dans le dernier suivi (Bonner et coll., 2017).

La seule autre étude donnant des informations sur les associations entre cancer du poumon et exposition à des insecticides organophosphorés spécifiques est l'étude cas-témoins réalisée au sein d'une cohorte d'applicateurs en Floride (Pesatori et coll., 1994). Les OR associés à l'exposition au diazinon (OR = 2,0 ; IC 95 % [0,7-5,5]) et dans une moindre mesure au malathion (OR = 1,6 ; IC 95 % [0,5-4,6]) étaient élevés bien que non significatifs. L'exposition au parathion et au chlorpyrifos ne concernait respectivement que deux et trois cas.

Carbamates

Une association entre cancer du poumon et exposition aux carbamates a été suggérée dans l'étude cas-témoins nichée dans une cohorte d'applicateurs en Floride (OR = 16,3 ; IC 95 % [2,2-122,5]), notamment pour l'exposition au propoxur (Pesatori et coll., 1994), et une association avec le carbofuran avait également été mise en évidence dans une première analyse au sein de la cohorte AHS (Alavanja et coll., 2004). Dans la dernière mise à jour de la cohorte AHS, l'association avec le carbofuran n'a pas été confirmée, et aucune association n'a été observée avec les deux autres insecticides de la famille des carbamates, le carbaryl et l'aldicarbe (Bonner et coll., 2017).

Fongicides et fumigants

Les données sur le lien entre cancer du poumon et d'autres substances actives proviennent exclusivement de l'AHS (Bonner et coll., 2017). Un risque de cancer du poumon significativement élevé (HR = 3,21 ; IC 95 % [1,74-5,91]) a été observé dans la catégorie d'exposition cumulée la plus faible au manèbe/mancozèbe (fongicide de la famille des dithiocarbamates), mais le HR est inférieur à 1 dans le dernier quartile et la tendance n'est pas significative (p = 0,436). Des HR élevés ont également été mis en évidence dans le 2^{e} (HR = 2,72 ; IC 95 % [1,12-6,64]) et 3^{e} (HR = 2,03 ; IC 95 % [0,90-4,58]) quartile d'exposition cumulée au dibromure d'éthylène, un fumigant, sans aucune indication d'un gradient dose-réponse. Aucune association n'a été observée avec les autres fongicides ou fumigants étudiés.

Conclusion

L'incidence et la mortalité du cancer du poumon sont plus faibles dans les populations agricoles que dans la population générale. Cette diminution du risque de cancer du poumon chez les agriculteurs a été rapportée dans une méta-analyse et dans la quasi-totalité des études postérieures, notamment dans plusieurs grandes cohortes en Europe et en Amérique du Nord. Elle s'explique principalement par leur consommation de tabac plus faible que celle de la population. L'exposition à un niveau élevé d'endotoxines dans l'élevage et le travail des grains contribue également à ce risque moindre de cancer du poumon chez les travailleurs de l'agriculture.

Cette sous-incidence globale chez les agriculteurs peut néanmoins masquer un effet potentiel des pesticides sur le risque de cancer du poumon. En effet, plusieurs études ajustant sur la consommation de tabac ont rapporté des risques élevés de cancer du poumon chez les agriculteurs et travailleurs agricoles, et dans plusieurs cultures ou tâches associées. Une méta-analyse a également mis en évidence un excès de cancer du poumon chez les travailleurs de la production de phytosanitaires, avec cependant une forte hétérogénéité entre études. Globalement, les résultats indiquent un lien possible entre exposition aux pesticides et cancer du poumon.

Peu d'études permettent d'évaluer la relation entre cancer du poumon et familles de pesticides ou substances actives. Une méta-analyse et une analyse groupée ont montré une association entre phénoxyherbicides, chlorophénols et cancer du poumon, association largement expliquée par l'exposition aux dioxines, les études concernant les phénoxyherbicides ou chlorophénols peu contaminés étant dans l'ensemble négatives. Les résultats concernant les autres substances actives proviennent très majoritairement de la cohorte AHS. Des associations positives ont été observées avec certains herbicides, étudiés uniquement dans cette cohorte : le chlorimuron-éthyle, la pendiméthaline et l'acétochlore. Une association avec l'exposition au DDT a été suggérée dans l'AHS et dans deux études cas-témoins. La dieldrine a également été associée au risque de cancer du poumon dans la cohorte AHS, mais aucune association n'est observée dans une étude cas-témoins et dans une cohorte de travailleurs de la production. Les résultats concernant les autres insecticides organochlorés et les carbamates sont dans l'ensemble négatifs. En revanche, plusieurs insecticides organophosphorés sont associés positivement au risque de cancer du poumon dans l'AHS, avec des relations dose-réponse significatives : le diazinon, le parathion et le malathion, l'association étant limitée aux non-adénocarcinomes pour le malathion. Des associations avec ces substances ont également été suggérées dans une autre étude de moins bonne qualité.

Bien qu'il soit pour l'instant difficile d'aboutir à des conclusions fermes, l'ensemble des données confirme l'intérêt de poursuivre des études sur le lien entre cancer du poumon et pesticides. La mise en évidence d'associations entre exposition aux pesticides et risque de cancer du poumon en milieu agricole est compliquée par l'exposition concomitante à plusieurs substances actives et par la nécessité de prendre en compte le tabac, l'exposition aux endotoxines ainsi que des cancérogènes pulmonaires potentiellement présents dans l'agriculture, comme les gaz d'échappement diesel. À l'heure actuelle, seules les cohortes AGRICAN et AHS sont en mesure de prendre en compte un grand nombre de facteurs de confusion potentiels, et disposent d'une évaluation des expositions de bonne qualité. Les analyses portant sur le cancer du poumon au sein de la cohorte AGRICAN n'ont jusqu'à présent concerné que des tâches et activités, l'étude de pesticides spécifiques devrait apporter un éclairage supplémentaire. Finalement, plusieurs études ont montré que les associations peuvent varier en fonction du type histologique. Ces analyses sont cependant encore limitées par le faible nombre de cas exposés, même dans les grandes cohortes. Des analyses groupées de plusieurs cohortes au sein de consortiums permettraient avec plus de puissance statistique d'étudier les effets de divers pesticides sur le risque des différents types histologiques de cancer du poumon.

Tableau I : Études sur les travailleurs agricoles avec ajustement sur la consommation de tabac

Référence	Pays	Exposition		Cas exposés	Mesure d'association [IC 95 %]
Cohortes en population générale					
Veglia et coll., 2007	Europe	Agriculture	Hommes+ Femmes	136	HR = 1,45 [1,1-1,9]
Preller et coll., 2008	Pays-Bas	Ouvriers de l'agriculture	Hommes < 15 ans ≥ 15 ans	 52 48	 HR = 1,10 [0,72-1,68] HR = 1,07 [0,64-1,79]
Lee et coll., 2006a	USA	Travailleurs agricoles	Hommes+ Femmes	16	HR = 1,19 [0,74-1,89]
Études cas-témoins					
Zahm et coll., 1989	USA	Agriculture	Hommes	157	OR = 0,9 [0,7-1,0]
McHugh et coll., 2010	USA (Mexicains-Américains)	Pesticides	Hommes+ Femmes	51	OR = 1,80 [1,13-2,86]
Fincham et coll., 1992	Canada	Agriculteurs	Hommes	107	OR = 0,81 [0,65-1,02]
MacArthur et coll., 2009	Canada	Agriculture	Hommes	162	OR = 0,83 [0,70-0,99]
de Stefani et coll., 1996	Uruguay	Agriculteurs	Hommes	112	OR = 1,2 [0,8-1,8]

Tableau I : (suite)

Référence	Pays	Exposition		Cas exposés	Mesure d'association [IC 95 %]
Pezzotto et Poletto, 1999	Argentine	Travailleurs agricoles	Hommes	54	OR = 1,8 [1,1-3,1]
Matos et coll., 2000	Argentine	Agriculture	Hommes	36	OR = 1,7 [1,0-2,8]
Jöckel et coll., 1992	Allemagne	Agriculteurs, travailleurs agricoles	Hommes	27	OR = 2,0 [1,03-3,99]
Jahn et coll., 1999	Allemagne	Agricultrices, travailleuses agricoles	Femmes	128	OR = 1,2 [0,88-1,72]
Brüske-Hohlfeld et coll., 2000	Allemagne	Agriculteurs, travailleurs agricoles	Hommes	770	OR = 1,31 [1,13-1,51]
Settimi et coll., 1999	Italie	Agricultrices	Femmes	8	OR = 1,7 [0,7-4,4]
Settimi et coll., 2001	Italie	Agriculteurs	Hommes	83	OR = 1,1 [0,8-1,7]
Bardin-Mikolajczak et coll., 2007	Europe Centrale et de l'Est	Agriculture	Hommes	274	OR = 1,21 [0,98-1,51]
			Femmes	46	OR = 1,19 [0,75-1,85]
		Travailleurs agricoles	Hommes	67	OR = 1,67 [1,08-2,60]
Lee et coll., 2006b	Russie	Pesticides	Hommes + Femmes	234	OR = 1,06 [0,82-1,36]
Levin et coll., 1988	Chine (Shanghai)	Travailleurs agricoles	Hommes	54	OR = 1,6 [1,0-2,5]
Chan-Yeung et coll., 2003	Chine (Hong-Kong)	Pesticides	Hommes	20	OR = 5,57 [1,66-18,7]
			Femmes	3	OR = 7,70 [0,52-115]
Ganesh et coll., 2011	Inde	Pesticides	Hommes	14	OR = 2,5 [1,2- 6,4]
Corbin et coll., 2011	Nouvelle-Zélande	Agriculture	Hommes + Femmes	99	OR = 1,01 [0,73-1,40]

Tableau II : Principales études sur les applicateurs dans l'AHS : associations positives

Familles chimiques	Substance active	Exposition	Cas	RR (IC à 95 %)	Référence
Herbicides					
Chloroacétamides	Acétochlore	Non exposés	251	1 (réf)	Lerro et coll., 2015
		Exposés	23	1,74 (1,07-2,84)	
		M1	13	2,26 (1,24-4,14)	
		M2	8	1,47 (0,68-3,16)	
		p de tendance		p = 0,16	
		Ni acétochlore ni atrazine	204	1 (réf)	
		Acétochlore seulement	4	1,96 (0,70-5,45)	
		Atrazine seulement	47	1,32 (0,93-1,88)	
		Acétochlore + atrazine appliqués séparément	19	2,01 (1,17-3,46)	
			4	1,29 (0,45-3,68)	
		en mélange	15	2,33 (1,30-4,17)	
Toluidines	Pendiméthaline	Non exposés	160	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		Q1	27	0,81 [0,52-1,26]	
		Q2	32	0,81 [0,50-1,31]	
		Q3	27	1,26 [0,82-1,92]	
		Q4	26	1,47 [0,93-2,31]	
		p de tendance		p = 0,551	
		Adénocarcinomes			
		M1 (durée)	12	0,92 [0,62-1,36]	
		M2 (durée)	12	1,45 [0,92-2,30]	
		p de tendance		p = 0,677	
		Non-adénocarcinomes			
		M1 (durée)	42	1,15 [0,58-2,27]	
		M2 (durée)	45	0,71 [0,34-1,48]	
		p de tendance		p = 0,138	
Sulfonylurées	Chlorimuron-éthyle	Non exposés	180	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		Q1	21	1,09 [0,69-1,72]	
		Q2	21	0,97 [0,62-1,51]	
		Q3	20	1,04 [0,65-1,68]	
		Q4	16	1,69 [1,00-2,83]	
		p de tendance		p = 0,294	
		Adénocarcinomes			
		M1 (durée)	13	1,03 [0,55-1,95]	
		M2 (durée)	6	0,77 [0,33-1,82]	
		p de tendance		p = 0,415	
		Non-adénocarcinomes			
		M1 (durée)	29	0,98 [0,65-1,48]	
		M2 (durée)	30	1,49 [0,99-2,25]	
		p de tendance		p = 0,047	

Tableau II : (suite)

Familles chimiques	Substance active	Exposition	Cas	RR (IC à 95 %)	Référence
Insecticides					
Organochlorés	DDT	Non exposés	140	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		Q1	29	1,01 [0,68-1,52]	
		Q2	27	0,96 [0,63-1,45]	
		Q3	25	0,99 [0,64-1,53]	
		Q4	26	1,46 [0,95-2,25]	
		p de tendance		p = 0,506	
		Adénocarcinomes			
		M1 (durée)	17	1,00 [0,56-1,80]	
		M2 (durée)	15	1,52 [0,82-2,84]	
		p de tendance		p = 0,424	
		Non-adénocarcinomes			
		M1 (durée)	45	0,99 [0,79-1,42]	
		M2 (durée)	30	1,11 [0,73-1,69]	
		p de tendance		p = 0,961	
	Dieldrine	Non exposés	230	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		T1	5	1,01 [0,42-2,47]	
		T2	4	0,50 [0,18-1,34]	
		T3	7	2,06 [0,95-4,43]	
		p de tendance		p = 0,880	
	Lindane	Non exposés	213	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		Q1	8	0,60 [0,29-1,28]	
		Q2	12	1,09 [0,59-2,00]	
		Q3	7	0,94 [0,44-2,01]	
		Q4	10	1,60 [0,82-3,14]	
		p de tendance		p = 0,754	
	Toxaphène	Non exposés	196	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		T1	16	1,04 [0,62-1,73]	
		T2	17	1,56 [0,94-2,57]	
		T3	18	1,26 [0,77-2,06]	
		p de tendance		p = 0,734	
Organophosphorés	Diazinon	Non exposés	199	1 [réf]	Jones et coll., 2015
		T1	22	1,09 [0,61-1,53]	
		T2	27	0,99 [0,66-1,52]	
		T3	37	1,41 [0,98-2,04]	
		p de tendance		p = 0,08	
		Adénocarcinomes			
		M1	10	1,17 [0,57-2,39]	
		M2	13	1,43 [0,76-2,69]	
		p de tendance		p = 0,14	
		Épidermoïdes			
		M1	9	0,98 [0,48-1,98]	
		M2	10	0,89 [0,45-1,76]	
		p de tendance		p = 0,54	
		Petites cellules			
		M1	4	0,63 [0,22-1,76]	
		M2	11	1,36 [0,68-2,71]	
		p de tendance		p = 0,18	
		Autres			
		M1	10	1,06 [0,49-2,29]	
		M2	17	1,50 [0,84-2,69]	
		p de tendance		p = 0,19	

Tableau II : (suite)

Familles chimiques	Substance active	Exposition	Cas	RR (IC à 95 %)	Référence
	Malathion	Non exposés	78	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		Q1	40	0,99 [0,61-1,61]	
		Q2	57	1,02 [0,72-1,43]	
		Q3	44	1,18 [0,81-1,72]	
		Q4	43	1,37 [0,94-2,00]	
		p de tendance		p = 0,197	
		Adénocarcinomes			
		M1 (durée)	32	1,07 [0,60-1,90]	
		M2 (durée)	18	0,86 [0,46-1,62]	
		p de tendance		p = 0,528	
		Non-adénocarcinomes			
		M1 (durée)	72	1,08 [0,74-1,57]	
		M2 (durée)	62	1,31 [0,91-1,90]	
		p de tendance		p = 0,041	
	Parathion	Non exposés	211	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		Q1	11	1,58 [0,86-2,91]	
		Q2	9	1,37 [0,70-2,69]	
		Q3	7	1,82 [0,86-3,89]	
		Q4	8	1,20 [0,58-2,47]	
		p de tendance		p = 0,049	
Fongicides					
Dithiocarbamates	Manèbe/ mancozèbe	Non exposés	214	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		Q1	11	3,21 [1,74-5,91]	
		Q2	6	0,91 [0,40-2,06]	
		Q3	9	1,44 [0,74-2,81]	
		Q4	7	0,86 [0,40-1,83]	
		p de tendance		p = 0,436	
Fumigants					
Hydrocarbures aliphatiques bromés	Dibromure d'éthylène	Non exposés	228	1 [réf]	Bonner et coll., 2017
		Q1	5	0,95 [0,39-2,30]	
		Q2	5	2,72 [1,12-6,64]	
		Q3	6	2,03 [0,90-4,58]	
		Q4	3	0,84 [0,27-2,62]	
		p de tendance		p = 0,277	

M1 : indice d'exposition cumulée < médiane ; M1 (durée) : durée cumulée (nombre de jours d'exposition vie entière) < médiane ; M2 : indice d'exposition cumulée ≥ médiane ; M2 (durée) : durée cumulée ≥ médiane ; Q1-Q4 : quartiles croissants de l'indice d'exposition cumulée (somme des jours d'exposition vie entière pondérée par l'intensité) ; T1-T3 : terciles croissants de l'indice d'exposition cumulée

Tableau III : Principales études sur les applicateurs dans l'AHS : associations négatives ou absence d'association

Familles chimiques	Substance active	Références
Herbicides		
Phénoxyherbicides	2,4-D, 2,4,5-T, dicamba	Bonner et coll., 2017 ; Lerro et coll., 2020
Chloroacétamides	Alachlore, métolachlore	Silver et coll., 2015 ; Lerro et coll., 2020
Triazines	Atrazine, cyanazine, métribuzine	Bonner et coll., 2017
Organophosphorés	EPTC	Bonner et coll., 2017
Toluidines	Trifluraline	Bonner et coll., 2017
Thiocarbamates	Butilate	Bonner et coll., 2017
Imidazolinones	Imazéthapyr	Bonner et coll., 2017
Ammoniums quaternaires	Paraquat, huile de pétrole	Bonner et coll., 2017
Aminophosphonate glycine	Glyphosate	Bonner et coll., 2017
Insecticides		
Carbamates	Aldicarbe, carbaryl, carbofuran	Bonner et coll., 2017
Organochlorés	Aldrine, chlordane, heptachlore	Bonner et coll., 2017
Organophosphorés	Chlorpyrifos, coumaphos, dichlorvos, fonofos, phorate, terbufos	Bonner et coll., 2017
Pyréthrinoïdes	Perméthrine (cultures), perméthrine (animaux)	Bonner et coll., 2017
Fongicides		
Carbamates	Bénomyl	Bonner et coll., 2017
Thiophtalimides	Captane	Bonner et coll., 2017
Isophtalonitriles	Chlorothalonil	Bonner et coll., 2017
Acylalanines	Métalaxyl	Bonner et coll., 2017
Fumigants		
Hydrocarbures aliphatiques bromés	Bromure de méthyle	Bonner et coll., 2017

Références

• Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires.

Acquavella J, Olsen G, Cole P, *et al*. Cancer among farmers: a meta-analysis. *Ann Epidemiol* 1998 ; 8 : 64-74. •

Acquavella JF, Delzell E, Cheng H, *et al*. Mortality and cancer incidence among alachlor manufacturing workers 1968-99. *Occup Environ Med* 2004 ; 61 : 680-5. •

Alavanja MCR, Dosemeci M, Samanic C, *et al*. Pesticides and lung cancer risk in the agricultural health study cohort. *Am J Epidemiol* 2004 ; 160 : 876-85.

Amre DK, Infante-Rivard C, Dufresne A, *et al*. Case-control study of lung cancer among sugar cane farmers in India. *Occup Environ Med* 1999 ; 56 : 548-52.

Bardin-Mikolajczak A, Lissowska J, Zaridze D, *et al*. Occupation and risk of lung cancer in Central and Eastern Europe: the IARC multi-center case-control study. *Cancer Causes Control* 2007 ; 18 : 645-54.

Beane Freeman LE, DeRoos AJ, Koutros S, *et al*. Poultry and livestock exposure and cancer risk among farmers in the agricultural health study. *Cancer Causes Control* 2012 ; 23 : 663-70.

Ben Khedher S, Neri M, Guida F, *et al*. Occupational exposure to endotoxins and lung cancer risk: results of the ICARE Study. *Occup Environ Med* 2017 ; 74 : 667-79.

Boers D, Portengen L, Bueno-de-Mesquita HB, *et al*. Cause-specific mortality of Dutch chlorophenoxy herbicide manufacturing workers. *Occup Environ Med* 2010 ; 67 : 24-31.

Bonner MR, Freeman LEB, Hoppin JA, *et al*. Occupational exposure to pesticides and the incidence of lung cancer in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 544-51.

Boulanger M, Tual S, Lemarchand C, *et al*. Lung cancer risk and occupational exposures in crop farming: results from the AGRIculture and CANcer (AGRICAN) cohort. *Occup Environ Med* 2018 ; 75 : 776-85.

Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018 ; 68 : 394-424.

Brüske-Hohlfeld I, Mühner M, Pohlabeln H, *et al*. Occupational lung cancer risk for men in Germany: results from a pooled case-control study. *Am J Epidemiol* 2000 ; 151 : 384-95.

Bucchi L, Nanni O, Ravaioli A, *et al*. Cancer mortality in a cohort of male agricultural workers from northern Italy. *J Occup Environ Med* 2004 ; 46 : 249-56.

Burns C, Bodner K, Swaen G, *et al*. Cancer incidence of 2,4-D production workers. *Int J Environ Res Public Health* 2011 ; 8 : 3579-90. •

Chan-Yeung M, Koo LC, Ho JC-M, *et al*. Risk factors associated with lung cancer in Hong Kong. *Lung Cancer* 2003 ; 40 : 131-40.

Cocco P, Fadda D, Billai B, *et al*. Cancer mortality among men occupationally exposed to dichlorodiphenyltrichloroethane. *Cancer Res* 2005 ; 65 : 9588-94.

Collins JJ, Bodner K, Aylward LL, *et al*. Mortality rates among workers exposed to dioxins in the manufacture of pentachlorophenol. *J Occup Environ Med* 2009 ; 51 : 1212-9. •

Corbin M, McLean D, Mannetje ŧA, *et al*. Lung cancer and occupation: A New Zealand cancer registry-based case-control study. *Am J Ind Med* 2011 ; 54 : 89-101.

Cowppli-Bony A, Uhry Z, Remontet L, *et al*. *Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2013. Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Partie 1 : tumeurs solides*. Saint-Maurice (Fra), 2016 : 274 p : www.santepubliquefrance.fr.

de Stefani E, Kogevinas M, Boffetta P, *et al*. Occupation and the risk of lung cancer in Uruguay. *Scand J Work Environ Health* 1996 ; 22 : 346-52.

Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, *et al*. *Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 – Tumeurs solides : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim*. Saint-Maurice (Fra), 2019 : 372 p : www.santepubliquefrance.fr.

Delva F, Brochard P, Pairon J-C. Les facteurs de risque professionnels des cancers bronchopulmonaires Quelle surveillance médicale après exposition à des cancérogènes pulmonaires professionnels ? *Rev Malad Respir Actual* 2017 ; 9 : 94-9.

Demers PA, Davies HW, Friesen MC, *et al*. Cancer and occupational exposure to pentachlorophenol and tetrachlorophenol (Canada). *Cancer Causes Control* 2006 ; 17 : 749-58.

Fincham SM, Hanson J, Berkel J. Patterns and risks of cancer in farmers in Alberta. *Cancer* 1992 ; 69 : 1276-85.

Frost G, Brown T, Harding A-H. Mortality and cancer incidence among British agricultural pesticide users. *Occup Med (Lond)* 2011 ; 61 : 303-10.

Ganesh B, Sushama S, Monika S, *et al*. A case-control study of risk factors for lung cancer in Mumbai, India. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011 ; 12 : 357-62.

Guida F, Papadopoulos A, Menvielle G, *et al*. Risk of lung cancer and occupational history: results of a French population-based case-control study, the ICARE study. *J Occup Environ Med* 2011 ; 53 : 1068-77.

IARC. *Some organophosphate insecticides and herbicides*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 112. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2017 : 464 p.

IARC. *Outdoor air pollution*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 109. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2016 : 444 p.

IARC. *Arsenic, metals, fibres, and dusts*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 100. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2012 : 465 p.

IARC. *Tobacco smoke and involuntary smoking*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 83. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2004 : 1438 p.

IARC. *Occupational exposures in spraying and application of insecticides*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 53. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 1991 : 45-92.

Jahn I, Ahrens W, Brüske-Hohlfeld I, *et al*. Occupational risk factors for lung cancer in women: Results of a case-control study in Germany. *Am J Ind Med* 1999 ; 36 : 90-100.

Jöckel K-H, Ahrens W, Wichmann H-E, *et al*. Occupational and environmental hazards associated with lung cancer. *Int J Epidemiol* 1992 ; 21 : 202-13.

Jones DR, Sutton AJ, Abrams KR, *et al*. Systematic review and meta-analysis of mortality in crop protection product manufacturing workers. *Occup Environ Med* 2009 ; 66 : 7-15.

Jones RR, Barone-Adesi F, Koutros S, *et al*. Incidence of solid tumours among pesticide applicators exposed to the organophosphate insecticide diazinon in the Agricultural Health Study: an updated analysis. *Occup Environ Med* 2015 ; 72 : 496-503.

Kachuri L, Harris MA, MacLeod JS, *et al*. Cancer risks in a population-based study of 70,570 agricultural workers: results from the Canadian census health and Environment cohort (CanCHEC). *BMC Cancer* 2017 ; 17 : 343.

Kogevinas M, Becher H, Benn T, *et al*. Cancer mortality in workers exposed to phenoxy herbicides, chlorophenols, and dioxins. An expanded and updated international cohort study. *Am J Epidemiol* 1997 ; 145 : 1061-75.

Lauzeille D, Marchand J-L, Ferrand M. *Consommation de tabac par catégorie socioprofessionnelle et secteur d'activité. Outil méthodologique pour l'épidémiologie*. Saint-Maurice (Fra), 2009 : 208 p : www.santepubliquefrance.fr.

Lee DJ, Fleming LE, LeBlanc WG, *et al*. Occupation and lung cancer mortality in a nationally representative U.S. cohort: The National Health Interview Survey (NHIS). *J Occup Environ Med* 2006a ; 48 : 823-32.

Lee WJ, Baccarelli A, Tretiakova M, *et al*. Pesticide exposure and lung cancer mortality in Leningrad province in Russia. *Environ Int*. 2006b ; 32 : 412-6.

Lemarchand C, Tual S, Leveque-Morlais N, *et al*. Cancer incidence in the AGRICAN cohort study (2005-2011). *Cancer Epidemiol* 2017 ; 49 : 175-85.

Lenters V, Basinas I, Beane-Freeman L, *et al*. Endotoxin exposure and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis of the published literature on agriculture and cotton textile workers. *Cancer Causes Control* 2010 ; 21 : 523-55.

Lerro CC, Hofmann JN, Andreotti G, *et al*. Dicamba use and cancer incidence in the agricultural health study: an updated analysis. *Int J Epidemiol* 2020.

Lerro CC, Koutros S, Andreotti G, *et al*. Cancer incidence in the Agricultural Health Study after 20 years of follow-up. *Cancer Causes Control* 2019 ; 30 : 311-22.

Lerro CC, Andreotti G, Koutros S, *et al*. Alachlor use and cancer incidence in the Agricultural Health Study: an updated analysis. *J Natl Cancer Inst* 2018 ; 110 : 950-8.

Lerro CC, Koutros S, Andreotti G, *et al*. Use of acetochlor and cancer incidence in the Agricultural Health Study. *Int J Cancer* 2015 ; 137 : 1167-75.

Levin LI, Zheng W, Blot WJ, *et al*. Occupation and lung cancer in Shanghai: a case-control study. *Br J Ind Med* 1988 ; 45 : 450-8.

Lortet-Tieulent J, Soerjomataram I, Ferlay J, *et al*. International trends in lung cancer incidence by histological subtype: Adenocarcinoma stabilizing in men but still increasing in women. *Lung Cancer* 2014 ; 84 : 13-22.

Louis LM, Lerro CC, Friesen MC, *et al*. A prospective study of cancer risk among Agricultural Health Study farm spouses associated with personal use of organochlorine insecticides. *Environ Health* 2017 ; 16 : 95.

Lynge E. Cancer incidence in Danish phenoxy herbicide workers, 1947-1993. *Environ Health Perspect* 1998 ; 106 Suppl 2 : 683-8.

MacArthur AC, Le ND, Fang R, *et al*. Identification of occupational cancer risk in British Columbia: A population-based case-control study of 2,998 lung cancers by histopathological subtype. *Am J Ind Med* 2009 ; 52 : 221-32.

MacFarlane E, Benke G, Del Monaco A, *et al*. Causes of death and incidence of cancer in a cohort of Australian pesticide-exposed workers. *Ann Epidemiol* 2010 ; 20 : 273-80.

MacLennan PA, Delzell E, Sathiakumar N, *et al*. Mortality among triazine herbicide manufacturing workers. *J Toxicol Environ Health* A 2003 ; 66 : 501-17.

MacLennan PA, Delzell E, Sathiakumar N, *et al*. Cancer incidence among triazine herbicide manufacturing workers. *J Occup Environ Med* 2002 ; 44 : 1048-58.

MacMahon B, Monson RR, Wang HH, *et al*. A second follow-up of mortality in a cohort of pesticide applicators. *J Occup Med* 1988 ; 30 : 429-32.

Mannetje A ŧ, McLean D, Cheng S, *et al*. Mortality in New Zealand workers exposed to phenoxy herbicides and dioxins. *Occup Environ Med* 2005 ; 62 : 34-40.

Mastrangelo G, Grange JM, Fadda E, *et al*. Lung cancer risk: effect of dairy farming and the consequence of removing that occupational exposure. *Am J Epidemiol* 2005 ; 161 : 1037-46.

Matos E, Vilensky M, Mirabelli D, *et al*. Occupational exposures and lung cancer in Buenos Aires, Argentina. *J Occup Environ Med* 2000 ; 42 : 653-9.

McHugh MK, Kachroo S, Liu M, *et al*. Assessing environmental and occupational risk factors for lung cancer in Mexican-Americans. *Cancer Causes Control* 2010 ; 21 : 2157-64.

Nanni O, Ravaioli A, Bucchi L, *et al*. Relative and absolute cancer mortality of women in agriculture in northern Italy. *Eur J Cancer Prev* 2005 ; 14 : 337-44.

Pesatori AC, Sontag JM, Lubin JH, *et al*. Cohort mortality and nested case-control study of lung cancer among structural pest control workers in Florida (United States). *Cancer Causes Control* 1994 ; 5 : 310-8.

Pezzotto SM, Poletto L. Occupation and histopathology of lung cancer: A case-control study in Rosario, Argentina. *Am J Ind Med* 1999 ; 36 : 437-43.

Preller L, Balder HF, Tielemans E, *et al*. Occupational lung cancer risk among men in the Netherlands. *Occup Environ Med* 2008 ; 65 : 249-54.

Pukkala E, Martinsen JI, Lynge E, *et al*. Occupation and cancer – follow-up of 15 million people in five Nordic countries. *Acta Oncol* 2009 ; 48 : 646-790.

Purdue MP, Järvholm B, Bergdahl IA, *et al*. Occupational exposures and head and neck cancers among Swedish construction workers. *Scand J Work Environ Health* 2006 ; 32 : 270-5.

Rafnsson V. Cancer incidence among farmers exposed to lindane while sheep dipping. *Scand J Work Environ Health* 2006 ; 32 : 185-9.

Ruder AM, Yiin JH. Mortality of US pentachlorophenol production workers through 2005. *Chemosphere* 2011 ; 83 : 851-61.

Sathiakumar N, Delzell E, Cole P. Mortality among workers at two triazine herbicide manufacturing plants. *Am J Ind Med* 1996 ; 29 : 143-51.

Settimi L, Comba P, Bosia S, *et al*. Cancer risk among male farmers: a multi-site case-control study. *Int J Occup Med Environ Health* 2001 ; 14 : 339-47.

Settimi L, Comba P, Carrieri P, *et al*. Cancer risk among female agricultural workers: a multi-center case-control study. *Am J Ind Med* 1999 ; 36 : 135-41.

Silver SR, Bertke SJ, Hines CJ, *et al*. Cancer incidence and metolachlor use in the Agricultural Health Study: An update. *Int J Cancer* 2015 ; 137 : 2630-43.

Tual S, Lemarchand C, Boulanger M, *et al*. Exposure to farm animals and risk of lung cancer in the AGRICAN cohort. *Am J Epidemiol* 2017 ; 186 : 463-72.

van Amelsvoort LGPM, Slangen JJM, Tsai SP, *et al*. Cancer mortality in workers exposed to dieldrin and aldrin: over 50 years of follow up. *Int Arch Occup Environ Health* 2009 ; 82 : 217-25.

Veglia F, Vineis P, Overvad K, *et al*. Occupational exposures, environmental tobacco smoke, and lung cancer. *Epidemiology* 2007 ; 18 : 769-75.

Zahm SH, Brownson RC, Chang JC, *et al*. Study of lung cancer histologic types, occupation, and smoking in Missouri. *Am J Ind Med* 1989 ; 15 : 565-78.

Zhao G, Ronda E, Cea L, *et al*. Mortality by cause of death and risk behaviors in farmers versus non-farmers: the importance of avoiding the healthy worker effect. *Int Arch Occup Environ Health* 2019 ; 92 : 599-608.

Annexes

Annexe 1 : Expertise collective Inserm : principes et méthode

L'Expertise collective Inserm[118] a pour mission d'établir un bilan des connaissances scientifiques sur un sujet donné dans le domaine de la santé à partir de l'analyse critique de la littérature scientifique internationale. Elle est réalisée à la demande d'institutions (ministères, organismes d'assurance maladie, agences sanitaires...) souhaitant disposer des données récentes issues de la recherche utiles à leurs processus décisionnels en matière de politique publique.

L'expertise collective est une mission de l'Inserm depuis 1994. Plus de quatre-vingts expertises collectives ont été réalisées dans de nombreux domaines de la santé. L'Inserm est garant des conditions dans lesquelles l'expertise est réalisée (pertinence des sources documentaires, qualification et indépendance des experts, transparence du processus) en accord avec sa Charte de l'expertise qui en définit la déontologie[119].

Le Pôle Expertise collective Inserm rattaché à l'Institut thématique Santé publique de l'Inserm assure la coordination scientifique et technique des expertises selon une procédure établie comprenant six étapes principales.

Instruction de la demande

La phase d'instruction permet de préciser la demande avec le commanditaire, de vérifier qu'il existe une littérature scientifique accessible sur la question posée et d'établir un cahier des charges qui définit le cadrage de l'expertise (périmètre et principales thématiques du sujet), sa durée et son budget à travers une convention signée entre le commanditaire et l'Inserm. La demande du commanditaire est traduite en questions scientifiques qui seront discutées et traitées par les experts.

118. Label déposé par l'Inserm.
119. Charte de l'expertise Inserm accessible sur : http://extranet.inserm.fr/integrite-scientifique

Constitution d'un fonds documentaire

À partir de l'interrogation des bases de données bibliographiques internationales et du repérage de la littérature grise (rapports institutionnels...), des articles et documents sont sélectionnés en fonction de leur pertinence pour répondre aux questions scientifiques du cahier des charges, puis sont remis aux experts. Ce fonds documentaire est actualisé durant l'expertise et complété par les experts selon leur champ de compétences.

Constitution du groupe multidisciplinaire d'experts

Pour chaque expertise, un groupe d'experts de 10 à 15 personnes est constitué. Sa composition tient compte d'une part des domaines scientifiques requis pour analyser la bibliographie et répondre aux questions posées, et d'autre part de la complémentarité des approches et des disciplines.

Les experts sont choisis dans l'ensemble de la communauté scientifique française et internationale. Ce choix se fonde sur leurs compétences scientifiques attestées par leurs publications dans des revues à comité de lecture et la reconnaissance par leurs pairs. Les experts doivent être indépendants du partenaire commanditaire de l'expertise et de groupes de pression reconnus. Chaque expert doit compléter et signer avant le début de l'expertise une déclaration de liens d'intérêt conservée à l'Inserm.

La composition du groupe d'experts est validée par la Direction de l'Institut thématique Santé publique de l'Inserm.

Le travail des experts dure de 12 à 18 mois selon le volume de littérature à analyser et la complexité du sujet.

Analyse critique de la littérature par les experts

Au cours des réunions d'expertise, chaque expert est amené à présenter son analyse critique de la littérature qui est mise en débat dans le groupe. Cette analyse donne lieu à la rédaction des différents chapitres du rapport d'expertise dont l'articulation et la cohérence d'ensemble font l'objet d'une réflexion collective.

Des personnes extérieures au groupe d'experts peuvent être auditionnées pour apporter une approche ou un point de vue complémentaire. Selon la thématique, des rencontres avec les associations de la société civile peuvent être également organisées par le Pôle Expertise collective afin de prendre

connaissance des questions qui les préoccupent et des sources de données dont elles disposent.

Synthèse et recommandations

Une synthèse reprend les points essentiels de l'analyse de la littérature et en dégage les principaux constats et lignes de force.

La plupart des expertises collectives s'accompagnent de recommandations d'action ou de recherche destinées aux décideurs. Les recommandations, formulées par le groupe d'experts, s'appuient sur un argumentaire scientifique issu de l'analyse. L'évaluation de leur faisabilité et de leur acceptabilité sociale n'est généralement pas réalisée dans le cadre de la procédure d'expertise collective. Cette évaluation peut faire l'objet d'un autre type d'expertise.

Publication de l'expertise collective

Après remise au commanditaire, le rapport d'expertise constitué de l'analyse, de la synthèse et des recommandations, est publié par l'Inserm. En accord avec le commanditaire, plusieurs actions de communication peuvent être organisées : communiqué de presse, conférence de presse, colloque ouvert à différents acteurs concernés par le thème de l'expertise (associations de patients, professionnels, chercheurs, institutions...).

Les rapports d'expertise sont disponibles en librairie et sont accessibles sur le site internet de l'Inserm[120]. Par ailleurs, la collection complète est disponible sur iPubli[121], le site d'accès libre aux collections documentaires de l'Inserm.

120. https://www.inserm.fr/information-en-sante/expertises-collectives
121. https://www.ipubli.inserm.fr/handle/10608/1

Annexe 2 : Algorithmes de recherche bibliographique

À partir du cahier des charges de l'expertise et des questions scientifiques correspondantes, une recherche bibliographique a été réalisée pour identifier des études portant sur les effets sanitaires des pesticides et constituer le fonds documentaire fourni aux experts pour l'analyse. Une recherche systématique des liens d'intérêt potentiels a été réalisée sur le corpus bibliographique et les liens identifiés sont signalés dans la liste des références de chaque chapitre.

Stratégie de recherche des liens d'intérêt potentiels

La stratégie utilisée est une recherche dans tous les champs et en texte intégral par les noms des firmes industrielles suivantes : Monsanto, Bayer, Syngenta, Nufarm, Hedland, Dow, Agrosciences, Makhteshim, Scotts, Rhone Poulenc, Sumiagro, Agriguard, Cheminova, Agria, Ventura agro... Les articles ont été analysés et classés selon 4 catégories : étude industrielle pour les dossiers d'évaluations réglementaires, étude financée par un industriel des phytosanitaires, un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires, et étude où un lien d'intérêt a été identifié.

Principales sources et bases bibliographiques

Les recherches bibliographiques ont été effectuées par l'utilisation de bases de données bibliographiques (Pubmed/Medline, Scopus, Cairn...) et l'utilisation du thesaurus MeSH, et les mots-clés cités ci-dessous. L'interrogation des bases a porté sur les années de publication 2012-2020. Un tri était effectué sur les articles pertinents pour le sujet de l'expertise.

Principaux mots-clés recherchés et volumétrie du fonds documentaire

Le premier fonds documentaire a été complété en juillet 2018. Il comprend à ce jour plus de 5 300 références. La recherche bibliographique a reposé sur la combinaison de mots-clés relatifs à la thématique de l'expertise et de mots-clés relatifs aux différentes sous-thématiques explorées (contexte,

épidémiologie, déterminants, conséquences). Un aperçu des paramètres de recherche est fourni ci-dessous :

Recherche nº 1

"prospective studies"[MeSH Terms] OR "prospective studies"[All Fields]

OR "cohort studies"[MeSH Terms] OR "cohort"[All Fields] OR "cohorts" [All Fields]

OR "follow-up studies"[MeSH Terms] OR "follow-up"[All Fields]

OR "case-control studies"[MeSH Terms] OR "case-control"[All Fields]

OR "retrospective studies"[MeSH Terms] OR "retrospective studies"[All Fields]

OR "longitudinal studies"[MeSH Terms] OR "longitudinal studies"[All Fields]

OR "cross-sectional studies"[MeSH Terms] OR "cross-sectional studies"[All Fields]

OR "prospective studies"[MeSH Terms] OR "prospective studies"[All Fields]

OR "pilot projects"[MeSH Terms] OR "pilot study"[All Fields] OR "pilot studies"[All Fields]

OR "prevalence"[All Fields] OR "prevalence"[MeSH Terms]

OR "risk factors"[MeSH Terms] OR "risk factors"[All Fields]

OR "multicenter study"[Publication Type] OR "meta-analysis"[Publication Type]

AND

"pesticides"[MeSH Terms] OR "pesticides"[All Fields]

OR "fungicides, industrial"[MeSH Terms] OR "fungicides"[All Fields]

OR "herbicides"[MeSH Terms] OR "herbicides"[All Fields]

OR "insecticides"[MeSH Terms] OR "insecticides"[All Fields]

OR "Agrochemicals" [MeSH Terms]

AND

[mots-clés pathologies]

Recherche nº 2

"agricultural workers' diseases"[MeSH Terms]

AND [mots-clés pathologies]

Recherche nº 3

"occupational exposure"[MeSH Terms] OR "environmental exposure"[MeSH Terms] OR "environmental"[All Fields] AND "exposure"[All Fields]

AND

"pesticides"[MeSH Terms] OR "pesticides"[All Fields]

OR "fungicides, industrial"[MeSH Terms] OR "fungicides"[All Fields]

OR "herbicides"[MeSH Terms] OR "herbicides"[All Fields]

OR "insecticides"[MeSH Terms] OR "insecticides"[All Fields]

OR "agrochemicals" [MeSH Terms]

AND

[Mots-clés pathologies]

Autres mots-clés

"farmers", "farm residents", "gardeners", "pesticide applicators", "occupational pesticide exposure"

Achevé d'imprimer en juin 2021 par Corlet Imprimeur - 14110 Condé-en-Normandie
Dépôt légal : juin 2021 - n° d'imprimeur : 21030748 - *Imprimé en France*

Inserm

EXPERTISE COLLECTIVE

Pesticides et effets sur la santé
Nouvelles données

Largement utilisés depuis plusieurs décennies, principalement dans le secteur agricole, les pesticides font l'objet de nombreuses études sur les liens entre l'exposition des populations et les effets sur la santé, et ils suscitent toujours autant d'inquiétude, les pathologies suspectées et les populations exposées étant multiples (agriculteurs, consommateurs des produits traités, riverains des parcelles agricoles...).

Cette expertise collective Inserm, sollicitée par cinq ministères, a pour objectif d'actualiser les données de l'expertise collective « Pesticides : Effets sur la santé » publiée en 2013. Réuni sous l'égide de l'Inserm, un groupe multidisciplinaire d'experts spécialistes en sociologie, épidémiologie, toxicologie et expologie a analysé la littérature scientifique internationale dans ces domaines afin d'évaluer le lien entre l'exposition aux pesticides et la survenue de certaines pathologies.

L'expertise dresse un bilan actualisé des connaissances sur les troubles du développement neuropsychologique et moteur de l'enfant, des pathologies neurologiques de l'adulte, et des pathologies cancéreuses de l'enfant et de l'adulte. La santé respiratoire, les pathologies thyroïdiennes et l'endométriose ont été également abordées et viennent enrichir cette nouvelle version de l'expertise. Elle présente aussi l'analyse des données sur deux substances actives et une famille de pesticides : le glyphosate, le chlordécone et les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase.

Prix : 80 €
ISBN 978-2-7598-2629-2
ISSN 1264-1782

inserm.fr

9 782759 826292

edp sciences