

# **Est-ce que l'exposition de façon non professionnelle aux pyréthrinoïdes durant la grossesse est susceptible d'altérer le neurodéveloppement de l'enfant ?**

**AUBERTIN Lola**

Deuxième année de médecine, Université de Caen, Normandie, France

**Avec comme tuteur le Docteur Michel NICOLLE** (Docteur en Médecine Générale et Vice-Président de l'association « Alerte Médecins sur Les Pesticides »)

## **Abréviations :**

AASQA : Association Agréée de la Surveillance de la Qualité de l'Air

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSES : Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ARS : Agence régionale de Santé

EFSA : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments

ELFE : Etude Longitudinale Française depuis l'Enfance

ESTEBAN : Étude de Santé sur l'Environnement, la Biosurveillance, l'Activité physique et la Nutrition

FAO : Organisation pour l'alimentation et l'agriculture

GABA : Acide  $\gamma$ -aminobutyrique

INERIS : Institut National de l'Environnement Industriel et des RISques

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

INSERM : Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale

PELAGIE : Perturbateurs Endocriniens : étude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité et l'Enfance

QSP : Quantité Suffisante Pour

# Table des matières

<b>1</b>	<b>Introduction</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Présentation des produits phytosanitaires</b>	<b>4</b>
2.1	Définition	4
2.2	Consommation	4
2.2.1	A l'échelle mondiale	4
2.2.2	En France	4
<b>3</b>	<b>Les pyréthrinoïdes</b>	<b>5</b>
3.1	Description	5
3.2	Applications	6
3.2.1	Usage agricole	6
3.2.2	Usage thérapeutique	6
3.2.3	Usage domestique	6
3.2.4	Usage sanitaire	6
3.3	Exposition et contamination	7
3.3.1	Population générale	7
3.3.2	Exposition professionnelle	8
3.4	Mode d'action	8
3.5	Etat de la connaissance actuelle de la communauté scientifique des effets des pyréthrinoïdes sur la santé humaine	9
3.5.1	Toxicité aiguë	9
3.5.2	Toxicité chronique	9
3.5.3	Toxicité sur les enfants	10
<b>4</b>	<b>Protocole de recherche</b>	<b>13</b>
4.1	Expérimentation animale in vivo	13
4.2	Etude chez l'homme	15
<b>5</b>	<b>Conclusion</b>	<b>15</b>
<b>6</b>	<b>Bibliographie</b>	<b>17</b>

## 1 Introduction

Les produits phytosanitaires sont des molécules chimiques très utilisées en agriculture, ainsi qu'à usage domestique et vétérinaire. Leur développement et leur utilisation ont connu une croissance fulgurante après la Seconde Guerre Mondiale, permettant notamment d'assurer l'approvisionnement des besoins alimentaires qui se sont accrus pendant cette période. D'abord utilisés sans limite et sans précaution particulière, la collectivité a peu à peu pris conscience des effets collatéraux de leur utilisation sur l'environnement et la santé humaine. Les progrès réalisés en terme de capacité analytique de ces substances ont permis à la communauté scientifique d'améliorer la connaissance de la dissémination et de la rémanence de ces produits dans le milieu (le sol, l'eau...), chez l'homme (grâce au biomonitoring) et de leurs impacts sur le milieu vivant et sur la santé humaine.

Dès lors, de nombreuses études ont été entreprises pour évaluer les effets de ces produits sur la santé humaine. Des corrélations entre l'exposition aux produits phytosanitaires et l'apparition de maladies ont été mises en évidence. Des recherches ont notamment été menées sur les risques liés à l'exposition aux pesticides pendant la grossesse sur le développement du fœtus. Des chercheurs ont par exemple prouvé que les organophosphorés, une classe d'insecticides très utilisée au XXème siècle et depuis presque tous interdits, induisent des altérations majeures des capacités motrices, cognitives et des fonctions sensorielles d'enfants quand les mères ont été exposées à ces produits pendant la grossesse.

Cependant, peu d'études ont, jusqu'à présent, étudié les impacts de l'exposition aux pyréthriinoïdes, une autre classe d'insecticides développée dans les années 1980 et dont l'usage a augmenté et s'est généralisé en se substituant progressivement aux organophosphorés.

Afin d'acquérir des éléments de connaissance et d'être en capacité de prévenir de conséquences potentielles de leur usage sur la santé, il apparaît nécessaire d'axer un protocole de recherche sur cette classe d'insecticides.

Dans ce contexte, l'étude proposée a pour objectif d'apporter des éléments de connaissances et de compréhension de l'impact d'une exposition prénatale aux pyréthriinoïdes sur le neurodéveloppement de l'enfant.

Pour commencer, nous ferons une présentation des produits phytosanitaires puis nous nous focaliseront sur les insecticides pyréthriinoïdes. Nous réaliserons ensuite un état de la connaissance des impacts des pyréthriinoïdes sur la santé humaine. Nous établirons ensuite un descriptif du protocole de recherche.

## 2 Présentation des produits phytosanitaires

### 2.1 Définition

Le terme pesticide désigne communément l'ensemble des produits phytosanitaires dont la finalité est de provoquer la mort des ravageurs (de l'anglais pest=nuisible). Les produits phytosanitaires employés (et donc responsables des expositions) regroupent les substances actives (seules ou combinées) associées elles-mêmes à des co-formulants ; ces produits bénéficient, après homologation par l'agence européenne EFSA, d'une autorisation de mise sur le marché sur les territoires nationaux. Il s'agit de préparations utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes indésirables qu'il s'agisse de plantes, d'animaux (insectes, acariens, mollusques, etc.), de champignons ou de bactéries. Les produits formulés vendus sont souvent beaucoup plus toxiques que les simples substances actives (Mesnage et al, 2014)<sup>1</sup>.

Les pesticides regroupent plus de 1 000 substances très hétérogènes tant du point de vue de leur structure chimique, de leurs propriétés que de leur mode d'action sur les organismes cibles. Les produits phytosanitaires peuvent être classés en quatre grandes familles :

- Les herbicides destinés à lutter contre les adventices ou plantes compétitives
- Les fongicides qui permettent d'éliminer les champignons parasites
- Les insecticides utilisés pour éliminer les insectes
- Les autres pesticides, destinés spécifiquement à un type d'espèce comme les molluscicides, les rodenticides, les nématicides, les corvicides, etc.

### 2.2 Consommation

#### 2.2.1 A l'échelle mondiale

Depuis la Seconde Guerre Mondiale, la quantité de pesticides utilisés dans l'agriculture n'a cessé d'augmenter. Depuis 1990, la consommation mondiale de produits phytosanitaires a augmenté de 82 % et plus de 4 millions de tonnes sont aujourd'hui utilisées chaque année.

#### 2.2.2 En France

La France, si l'on se réfère aux quantités de produits phytosanitaires vendues, se situe en tête à l'échelle européenne (64 700 tonnes en 2020). Mais, si on se réfère à l'utilisation rapportée à l'hectare de terre cultivée, vu l'importance des surfaces agricoles en France, celle-ci se situe dans la moyenne des pays européens (3,4 kg/ha). (Source : FAO)

Une prise de conscience de l'impact sanitaire et environnemental de l'utilisation de ces produits apparaît progressivement et s'immisce dans les débats de société. En 2007, l'Etat Français instaure Le Grenelle de l'Environnement. Dans ce cadre, il a été établi une

stratégie de réduction de l'usage des produits phytosanitaires, appelée Plan Ecophyto dont l'objectif est de réduire de moitié l'utilisation de produits phytosanitaires à l'horizon 2018. Malgré des tentatives de relances en 2018 avec un plan Ecophyto 2, le constat est sévère : la consommation de produits phytosanitaires en France est restée à des niveaux très élevés.

Dans notre étude, nous nous intéresserons à la catégorie de produits phytosanitaires la plus utilisée en France en tant qu'insecticides, les pyréthriinoïdes.

## 3 Les pyréthriinoïdes

### 3.1 Description

Il existe deux types de pyréthriinoïdes : les pyréthriinoïdes naturels et les pyréthriinoïdes de synthèse.

Les pyréthriinoïdes naturels sont extraits des fleurs du chrysanthème. Leur persistance dans l'environnement est limitée.

Les pyréthriinoïdes de synthèse sont des analogues synthétiques des pyréthriinoïdes naturels. Ils reproduisent la structure et l'action biologique de molécules naturellement présentes dans une variété de chrysanthème. Il en existe 2 types : le type II se distingue du type I par la présence d'un groupement nitrile dans sa formulation. Ils ont été créés dans le but d'optimiser leur propriété insecticide. Ils se dégradent moins rapidement dans l'environnement et demeurent ainsi actifs sur une durée plus longue. Ils sont associés à un synergiste, le butoxyde de pipéronyle (BPO), qui est un inhibiteur des enzymes responsables de l'élimination des pyréthriinoïdes chez l'insecte cible. Il existe 16 substances actives de pyréthriinoïdes de synthèse dont certaines sont aujourd'hui interdites d'utilisation par l'Union Européenne ou la France (cf. annexe n°1).

Une fois dans l'organisme, les pyréthriinoïdes sont rapidement métabolisés au niveau du foie, puis éliminés majoritairement dans les urines en 48 heures sous forme de métabolites. Dans l'environnement, les pyréthriinoïdes se dégradent par hydrolyse, photolyse et par l'activité des micro-organismes, mais avec des cinétiques différentes.

Leur efficacité insecticide à très faible dose, le peu de résistance développée par les insectes, leur faible persistance dans l'environnement et leur aptitude à se dégrader facilement, ont fait des pyréthriinoïdes des produits phytosanitaires de référence, bénéficiant ainsi d'un bon rapport efficacité/toxicité. Toutefois, récemment sont apparues des résistances qui posent des problèmes dans le domaine agricole (avec le puceron vert) et en

santé humaine en lien avec les zoonoses (*Aedes Albopictus* et *Aedes Aegypti*, moustiques vecteurs de maladies humaines, Smith et al. 2016). De plus, les pyréthri-noïdes sont connus pour leurs impacts délétères sur certains insectes non cibles comme les abeilles.

## 3.2 Applications

### 3.2.1 Usage agricole

Les pyréthri-noïdes sont très utilisés notamment pour la protection des cultures céréalières (principalement le colza) et légumières, ainsi qu'en arboriculture, viticulture et sylviculture.

### 3.2.2 Usage thérapeutique

Utilisé comme antiparasitaire externe, ils sont indiqués dans le traitement de la gale et des pédiculoses humaines. Pour le traitement de la gale, le Vidal ne précise pas de contre-indication pour la femme enceinte. Une contre-indication existe seulement pour les nourrissons de moins de deux mois. Egalement, la revue médicale « Prescrire » de 2019 préconise aux femmes enceintes d'utiliser la perméthrine plutôt que l'ivermectine dans le traitement de la gale et les incite à suspendre temporairement l'allaitement pendant ce traitement. Chez les enfants pesant moins de 15 kg et présentant des lésions cutanées liées à une gale, la revue « Prescrire » considère la perméthrine comme la principale option à envisager.

Les pyréthri-noïdes ont également une indication majeure dans le domaine vétérinaire. Les doses administrées aux chiens en collier ou en solution percutanée sont extrêmement élevées par rapport aux doses prescrites pour le traitement des cultures d'où un risque domestique très important. Par exemple, la dose de perméthrine contenue dans les insecticides cutanés vétérinaires pour un chien de 40kg est de 3g. En comparaison, pour traiter un hectare de culture, la dose utilisée est de 70g.

### 3.2.3 Usage domestique

Ils sont majoritairement utilisés comme insecticides ménagers dans les habitations, générant la présence de substances actives de pyréthri-noïdes dans la poussière domestique. Dans les pays occidentaux, la perméthrine est la molécule pyréthri-noïde la plus communément retrouvée dans les environnements intérieurs.

### 3.2.4 Usage sanitaire

Ils sont utilisés à des fins de lutte anti-vectorielle dans les pays du tiers-monde (paludisme, fièvre jaune, trypanosomiasés, filarioses, maladie de Chagas...). Ces usages peuvent engendrer des contaminations environnementales avec des effets en cascade comme par exemple un effet létal sur les pollinisateurs.

### 3.3 Exposition et contamination

#### 3.3.1 Population générale

Compte-tenu de la faible persistance des pyréthrinoïdes dans l'environnement, le principal risque de contamination de la population réside dans le contact direct des pyréthrinoïdes, par exemple lors de l'utilisation en agriculture, tant pour les manipulateurs que pour les riverains, ou lors de l'utilisation domestique avec l'inhalation de poussière contaminée.

Cette idée est confortée par la première interprétation, publiée en 2020, des résultats de la Campagne Nationale Exploratoire des Pesticides dans l'air ambiant (CNEP)<sup>3</sup> menée conjointement par l'ANSES, INERIS et le réseau des AASQA, dans laquelle deux molécules de pyréthrinoïdes (la deltaméthrine et la perméthrine) ont été identifiées comme étant des substances d'intérêts et qui nécessiteront la poursuite des investigations. Cette campagne contribuera in fine à définir une stratégie nationale de surveillance des pesticides dans l'air ambiant.

De plus, Béranger et al. (2018)<sup>4</sup> ont mis en évidence la présence de pesticides (dont la perméthrine) dans des échantillons de cheveux de femmes enceintes de la cohorte ELFE.

Egalement, l'étude transversale ESTEBAN<sup>5</sup> publiée en 2021 a permis de mesurer les niveaux d'imprégnation par 5 métabolites des pyréthrinoïdes (3-PBA, F-PBA, Br2CA, cis et trans Cl2CA) dans la population française continentale âgée de 6 à 74 ans. Cette étude a mis en évidence que les principaux déterminants des niveaux d'imprégnation par les pyréthrinoïdes retrouvés étaient l'utilisation d'antiparasitaires chez les animaux domestiques et plus largement l'utilisation d'insecticides au domicile des participants.

Cette étude révèle également que les concentrations en pyréthrinoïdes mesurées sont plus élevées chez les enfants que chez les adultes. Cela peut s'expliquer par leur poids corporel moindre, par le fait qu'ils respirent et mangent proportionnellement plus, qu'ils jouent souvent sur le sol et ont tendance à porter leurs mains à la bouche. Aussi, leur système de détoxification peut ne pas avoir atteint sa pleine maturité. Ces paramètres engendrent une sensibilité accrue des enfants aux pyréthrinoïdes.

Les pyréthrinoïdes peuvent également être absorbés par ingestion d'aliments ou d'eau contaminés. Cependant, l'étude ESTEBAN a montré que l'alimentation n'a pas d'influence sur les concentrations en métabolites des pyréthrinoïdes chez les enfants. Cela est également appuyé par l'étude de l'Alimentation totale infantile réalisée par l'ANSES en 2016<sup>6</sup> qui a jugé acceptable l'exposition alimentaire aux pyréthrinoïdes chez les enfants de moins de 3 ans.

En ce qui concerne le risque d'exposition lié à la consommation d'eau potable, le réseau de surveillance géré par l'ARS révèle jusqu'à présent une présence très ponctuelle des pyréthrinoïdes dans les masses d'eaux superficielles. En 2022, seules 0,25% des analyses effectuées ont décelé une présence de pyréthrinoïdes au-delà de la limite de quantification qui est de 0,05 µg/L pour chaque substance ; les valeurs retrouvées dans les eaux brutes, même avant traitement pour la consommation humaine, restent cependant inférieures à la norme de potabilité qui est de 0,1 µg/L. En ce qui concerne les masses d'eaux souterraines aucune substance n'a été quantifiée. L'exposition aux pyréthrinoïdes via la consommation d'eau du réseau de distribution public s'alimentant soit en eau de surface soit en eau souterraine et après éventuel traitement, s'avère, à ce stade, insignifiante.

Ainsi, d'après les connaissances actuelles, l'exposition alimentaire (nourriture et eau) aux pyréthrinoïdes semble être mineure face aux expositions de contact dans le cadre d'usage agricole et domestique.

### 3.3.2 Exposition professionnelle

Même s'ils font l'objet de mesures de protection dans le cadre de leur activité professionnelle, les ouvriers des usines de production et de conditionnement de ces produits et les agriculteurs qui les utilisent sont de manière évidente les plus exposés. Ces travailleurs sont particulièrement sujets à l'exposition cutanée, notamment lors d'erreur de manipulation.

## 3.4 Mode d'action

Les pyréthrinoïdes sont des insecticides neurotoxiques. Ils traversent la cuticule de l'insecte et provoquent sa sidération immédiate (effet knock-down), puis sa mort. Leur neurotoxicité résulte d'une action sur les canaux sodiques membranaires des axones du système nerveux central et périphérique (Field et al, 2017)<sup>7</sup>. En effet, ils empêchent la fermeture des canaux sodiques au niveau des axones (partie de la cellule nerveuse qui conduit l'influx nerveux jusqu'aux cellules cibles) des neurones inhibant ainsi la repolarisation des cellules nerveuses. Les pyréthrinoïdes sont donc des inhibiteurs de l'inactivation du potentiel d'action. Ils induisent un défaut d'inactivation du canal sodique induisant une dépolarisation susceptible de réactiver la membrane et d'engendrer des trains de potentiels d'action. Ils sont donc responsables d'une hyperexcitabilité neuronale.

En plus de leur action principale sur les canaux sodiques, certains pyréthrinoïdes agissent sur les canaux calciques et chlorures et impactent la libération de GABA et de glutamate (les principaux neuromédiateurs inhibiteurs et excitateurs respectivement). Il a également



été rapporté un effet des pyréthriinoïdes sur le stress oxydant (Rehman et al, 2016)<sup>8</sup> ainsi que sur l'augmentation de l'apoptose en culture cellulaire (Wu et al, 2003)<sup>9</sup> et in vivo (Wu et Liu, 2000)<sup>10</sup>.

Les pyréthriinoïdes de type I et II ont des effets qualitativement différents sur les canaux sodium induisant des effets différents sur l'excitabilité des muscles squelettiques des vertébrés (Soderlund DM et al, 1989)<sup>11</sup>. Cela explique les différents types de syndromes identifiés chez les insectes et les mammifères ayant subi un empoisonnement aux pyréthriinoïdes. Les pyréthriinoïdes de type I induisent une symptomatologie de type tremblements, ataxie, excitabilité, hypersensibilité tandis que les pyréthriinoïdes de type II induisent une symptomatologie de type choréoathétose, salivation, tremblements, convulsions (Breckenridge et Al, 2009)<sup>12</sup>.

### 3.5 Etat de la connaissance actuelle de la communauté scientifique des effets des pyréthriinoïdes sur la santé humaine

De nombreuses études, faites initialement sur des rongeurs, se sont penchées sur le caractère neurotoxique de la deltaméthrine. Il a été démontré de multiples effets sur le développement, avec des influences durables sur la cognition et le comportement. (Pitzer et al, 2021)<sup>13</sup>

Les recherches se sont ensuite légitimement penchées sur les effets sur l'homme.

#### 3.5.1 Toxicité aigüe

L'exposition cutanée à court terme aux pyréthriinoïdes peut mener à des sensations anormales au visage (paresthésie). Leur ingestion peut causer des maux de gorge, des nausées, des vomissements et des crampes abdominales, des ulcères buccaux, une augmentation des sécrétions et une déglutition difficile. Ces effets demeurent passagers. Il est rare qu'une exposition aigüe aux pyréthriinoïdes mène au décès, bien que de fortes doses causent des tremblements, le coma et des convulsions.

#### 3.5.2 Toxicité chronique

Les effets d'une exposition à long terme sont mal connus. Les données concernant la toxicité des pyréthriinoïdes proviennent surtout d'études chez l'animal ; rares sont les études épidémiologiques chez l'humain. Les effets découlant d'une exposition à long terme chez l'animal comprennent des perturbations sur le plan du comportement, du développement et de l'équilibre hormonal. Le principal mode d'action des pyréthriinoïdes réside dans leur effet sur le système nerveux et leur neurotoxicité développementale, cette dernière ayant été démontrée chez l'animal. Par exemple, il a été mis en évidence que la cyfluthrine affecte la

croissance, le taux de survie et le fonctionnement de cellules spécifiques du cerveau et de la moelle épinière appelées astrocytes (Hénault-Ethier et al, 2015)<sup>14</sup>.

Des recherches indépendantes ont suggéré que certains pyréthrinoïdes sont potentiellement neurotoxiques, cancérigènes, reprotoxiques, et capables de perturber le système endocrinien. Or, de telles conclusions ont parfois été examinées et réfutées lors de la réévaluation réglementaire des homologations par les autorités nationales ou lors d'évaluations menées par les autorités internationales.

Certaines maladies – qu'on appelle canalopathies<sup>15</sup>- ont un mode d'action très semblable à celui des pyréthrinoïdes et on ignore l'impact de l'exposition aux pyréthrinoïdes sur ces maladies. Les canalopathies relatives aux canaux sodiques se manifestent par des épilepsies généralisées avec convulsions fébriles plus (GEFS+), des épilepsies myocloniques sévères du nourrisson ou syndrome de Dravet et des convulsions néonatales infantiles familiales bénignes.

### 3.5.3 Toxicité sur les enfants

Le développement rapide des enfants peut donner lieu à des périodes de sensibilité particulière, par exemple durant le développement du cerveau.

Des études toxicologiques in vitro et chez l'animal ont mis en évidence que les pyréthrinoïdes pouvaient être des perturbateurs endocriniens. Ils pourraient donc interférer avec des systèmes hormonaux impliqués dans le développement normal du système nerveux central tels que le système hypothalamo-thyroïdien. Pendant la grossesse, les hormones thyroïdiennes chez le fœtus jouent un rôle dans la différenciation cellulaire à partir des cellules souches neurales (soit vers les neurones soit vers les cellules gliales) mais aussi dans la migration des cellules nerveuses vers l'hippocampe ou le cortex et ceci peut avoir des conséquences sur le développement cognitif. Les troubles de la migration neuronale entraînent des anomalies morphologiques du cerveau en particulier des ectopies neuronales mieux connues depuis le développement des IRM.

L'expertise collective de l'INSERM de 2021<sup>16</sup> a caractérisé les liens entre l'exposition professionnelle ou environnementale des mères pendant la grossesse et les troubles de développement neuropsychologique et moteur de l'enfant. Malgré la difficulté de cibler des substances actives en particulier, cette expertise collective établit un niveau de présomption fort avec les insecticides organophosphorés (classe d'insecticide spécifique) et les pyréthrinoïdes. Le lien entre les organophosphorés et l'altération des capacités motrices,

cognitives et des fonctions sensorielles de l'enfant est confirmé avec un niveau de présomption fort.

Les troubles associés aux pyréthrinoïdes décrits par l'expertise collective de l'INSERM sont les suivants :

- Etude de l'Université Columbia sur une cohorte new-yorkaise : diminution des performances cognitives globales à 3 ans en lien avec les niveaux de butoxyde de pipéronyle mesurés dans l'air pendant la grossesse (Horton et al, 2011)<sup>17</sup>
- Etude sur une autre cohorte new-yorkaise de l'hôpital Mount Sinai : augmentation de troubles du comportement, de type externalisé et internalisé, de l'enfant entre 4 et 9 ans en lien avec l'exposition prénatale aux pyréthrinoïdes (Furlong et al, 2017)<sup>18</sup>
- Etude sur la cohorte de Central Ohio : diminution des performances cognitives globales à l'âge de 3 mois en association avec les niveaux urinaires de métabolites de pyréthrinoïdes mesurés pendant le 3<sup>e</sup> trimestre de grossesse, en tenant compte de ces mêmes métabolites mesurés dans les urines des enfants de 3 mois (Fluegge et al, 2016)<sup>19</sup>
- Etude sur la cohorte française PELAGIE (regroupant des femmes enceintes de Bretagne) : 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 et en cis-DBCA mesurées dans les urines des enfants le matin du jour de l'évaluation neuropsychologique (Viel et al, 2015)<sup>20</sup>. Cette étude a également montré qu'un risque augmenté de troubles élevés de comportement internalisé était associé aux concentrations urinaires prénatales de cis-DCCA
- Etude faite au Danemark sur la cohorte Odense Child : augmentation des troubles de déficit d'attention et d'hyperactivité (TDAH) chez l'enfant à 2,5 ans en lien avec les concentrations urinaires maternelles de 3-PBA (Dalsager et al, 2019)<sup>21</sup>
- Etude sur la cohorte mexicaine ELEMENT : 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 al, 2016)<sup>22</sup>
- Etude sur une cohorte mères-enfant VHEMBE conduite en Afrique du Sud : diminution du score de développement socio-émotionnel de l'enfant à 1 an associée aux concentrations maternelles urinaires de cis-DCCA, trans DCCA et 3-PBA ; ainsi qu'une diminution du score BSID de développement du langage à l'âge de 2 ans associée à la concentration en cis-DBCA (Eskenazi et al, 2018)<sup>23</sup>

- Etude sur une cohorte mères-enfants japonaise : meilleur développement de l'enfant à 18 mois en lien avec les concentrations urinaires de 3-PBA mesurées au 1<sup>er</sup> trimestre de grossesse (Hisada et al, 2017)<sup>24</sup>
- Résultats de trois études transversales : i) augmentation des troubles comportementaux en lien avec leurs concentrations urinaires de cis-DCCA (Oulhote et al, 2013)<sup>25</sup> ; ii) aucune association avec les troubles de comportement externalisés (Quiros-Alcala et al, 2014)<sup>26</sup> ; iii) 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 al, 2015)<sup>27</sup>

Selon l'expertise collective de l'INSERM : « Une concordance de résultats entre les études, quel que soit le contexte, est observée et suggère avec une présomption forte 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. » La présomption 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. 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.

En revanche, les études actuelles s'intéressant au rôle possible de l'exposition prénatale aux insecticides pyréthrinoïdes sur les capacités cognitives des enfants rapportent des résultats variables et ne permettent pas de conclure. L'INSERM évoque donc un niveau de présomption faible concernant l'altération des capacités motrices et cognitives par les pyréthrinoïdes. La présomption est considérée 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.

L'évaluation réglementaire des pyréthrinoïdes se heurte donc à un manque de données se rapportant à la neurotoxicité développementale des pyréthrinoïdes sur les enfants.

Nous proposons donc d'axer notre étude sur l'impact d'une exposition prénatale aux pyréthrinoïdes sur le développement moteur et cognitif de l'enfant, en nous appuyant sur les deux facteurs potentiels de risques suivants :

- La perméabilité de la membrane hémato-encéphalique

- Le rôle que pourrait jouer les pyréthriinoïdes via la voie endocrinienne (thyroïdienne) face à des troubles neuro-développementaux

Le neurodéveloppement doit être compris comme un processus développemental neurologique, en particulier cérébral, où un certain nombre de processus cellulaires ont lieu comme la différenciation, la migration, la division cellulaire, la mort cellulaire sélective, la synaptogenèse ou la plasticité. (Demeneix et al., 2016)<sup>28</sup>

## 4 Protocole de recherche

Le travail proposé se décomposera en 2 temps :

- Une première étude en laboratoire basée sur une expérimentation chez l'animal
- Une deuxième étude de type descriptive

### 4.1 Expérimentation animale in vivo

Nous choisirons, comme objet de l'étude, deux pyréthriinoïdes suspectés d'être des perturbateurs endocriniens thyroïdiens (cyperméthrine, perméthrine) selon Lupu et al (2020)<sup>29</sup>. Il existe des similitudes de formule entre la molécule de thyroxine (T4) et les molécules de pyréthriinoïdes. T4 est une hormone thyroïdienne, synthétisée par la glande thyroïde, qui doit se transformer en T3 pour devenir active. Du fait de leur ressemblance de structure moléculaire, les pyréthriinoïdes pourraient interférer avec les hormones thyroïdiennes, en se fixant par exemple sur la même cible moléculaire. Ceci conforte l'hypothèse que les pyréthriinoïdes peuvent être des perturbateurs endocriniens thyroïdiens.

Les perturbateurs endocriniens affectent le neurodéveloppement.

#### **Protocole proposé :**

Nous solliciterons la validation de ce projet auprès du comité d'éthique local en ce qui concerne l'utilisation d'animaux de laboratoire à des fins d'expérience.

Nous constituerons trois groupes de souris Sprague Dawley gestantes.

Groupe témoin : souriceaux issus de souris gestantes non exposées aux deux produits contenant des pyréthriinoïdes et recevant comme alimentation par gavage une solution de 5 mL/kg d'huile de maïs. Un dosage des hormones thyroïdiennes dans le sang du souriceau sera effectué à J10 pour avoir un développement suffisant pour les prélèvements. Ce groupe témoin sera constitué de 10 souriceaux.

Groupe expérimental : établissement de deux groupes de souris gestantes :

- Le premier groupe exposé à la cyperméthrine sous forme du produit commercialisé sous le nom de SHERPA 100 EW (une émulsion de type aqueux de cyperméthrine à 100 g/L) ayant eu une première AMM en 2011
- Le deuxième groupe exposé à la perméthrine sous la forme de Dog-Net Spot-on 715 mg (à base de perméthrine et d'un excipient qsp 1mL), produit ayant une AMM (1995) pour usage vétérinaire

Nous utiliserons non pas les substances actives mais les produits commercialisés à base unique de cette substance, les seuls à l'origine d'une exposition.

Ces deux groupes seront composés de 3 sous-groupes de 10 souris gestantes.

Selon le protocole proposé par Pitzer<sup>13</sup>, chaque sous-groupe recevra par gavage une solution de 0,25 ; 0,5 et 1 mg/kg des produits contenant de la perméthrine (Dog-Net Spot-on) ou de la cyperméthrine (SHERPA 100 EW) dissous dans 5 mL/kg d'huile de maïs.

A la naissance des souriceaux issus du groupe expérimental, des analyses leur seront effectuées à J10 par LC-MS qui est une méthode d'analyse qui combine la chromatographie en phase liquide et la spectrométrie de masse :

- Un dosage de leurs hormones thyroïdiennes dans le sang
- Une mesure dans les urines de la concentration de cyperméthrine chez les souriceaux issus du premier groupe
- Une mesure dans les urines de la concentration de perméthrine chez les souriceaux issus du deuxième groupe
- Une mesure dans les urines des métabolites des deux pyréthrinoïdes respectifs dans les deux groupes
- Un seul sous-groupe (celui exposé à la solution de 1 mg/kg), donc sur 10 souriceaux, et ceci afin de réduire au maximum les euthanasies, sera utilisé pour analyser la concentration des deux pyréthrinoïdes dans les diverses structures cérébrales, principalement l'hippocampe et le cortex, les substances actives seront extraites par un solvant. En effet, les pyréthrinoïdes étant lipophiles, ils sont capables de traverser la membrane hémato-encéphalique et donc leur présence dans le cerveau peut être suspectée. Sinha et al (2003)<sup>30</sup> ont mis en évidence une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique suite à l'exposition de rats au cours des premiers stades de développement à un répulsif contre les moustiques à base de pyréthrinoïdes.

**Résultats attendus :**

Si les concentrations d'hormones thyroïdiennes sont modifiées par rapport au groupe témoin, alors la cyperméthrine et la perméthrine pourraient être considérées comme perturbateurs endocriniens suspectés et donc possiblement impactant le système nerveux du fœtus (car les hormones thyroïdiennes sont indispensables au développement normal du cerveau du fœtus). Ces deux pyréthrinoïdes pourront alors être qualifiés perturbateurs neuroendocriniens (Seralini et al, 2021)<sup>31</sup>. Si le résultat du dosage des pyréthrinoïdes dans le tissu cérébral est positif, cela conforterait la plausibilité d'un éventuel lien entre une exposition aux pyréthrinoïdes et le franchissement de la barrière hémato-encéphalique ainsi que la localisation dans certaines structures et soulèverait l'hypothèse d'un lien avec l'apparition de troubles du neurodéveloppement.

## 4.2 Etude chez l'homme

L'étude chez l'homme consistera à évaluer l'exposition aux pyréthrinoïdes de femmes en situation préconceptionnelle (lors de l'arrêt d'une contraception ou en consultation préconceptionnelle) ou pendant leur grossesse en leur proposant de répondre à un questionnaire. Celui-ci prendra en compte la présence d'un animal domestique dans le domicile, l'utilisation d'insecticides dans le logement, l'utilisation de shampoing anti-poux ainsi que la localisation de l'habitat, à proximité ou non de zones de cultures agricoles employant des pyréthrinoïdes.

Egalement, une analyse d'urine sera proposée à ces femmes pour mesurer les métabolites des pyréthrinoïdes. Un avis du Comité Consultatif National d'Ethique sera alors requis.

Afin d'avoir un échantillon représentatif de la population concernée, 100 sujets devront intégrer l'étude. Ce questionnaire, ainsi que l'analyse d'urine, permettront d'estimer l'imprégnation globale des femmes enceintes ou en période préconceptionnelle aux pyréthrinoïdes et l'impact sur ces femmes d'un animal domestique traité.

S'il est observé chez la femme des niveaux d'imprégnation élevés et toxiques pour une grossesse à venir ou présente, des mesures pourront être mises en place afin de réduire le niveau d'exposition de ces femmes aux pyréthrinoïdes et ainsi réduire le risque d'apparition de troubles du neurodéveloppement chez le futur enfant. Ces préconisations pourront être intégrées dans les mesures qui sont présentées lors de la consultation préconceptionnelle prévue par le Ministère de la Santé.

## 5 Conclusion

Création du génie chimique ayant contribué à la production alimentaire et à la sécurité sanitaire, les produits phytosanitaires sont cependant la source de fortes préoccupations, notamment en matière de santé. La question est également posée de l'usage d'alternatives

aux pesticides. Le type de produits, leur nature et leur mode d'action se renouvelant constamment, la recherche médicale n'a de cesse d'essayer d'évaluer les risques qu'ils représentent. Bien qu'utilisés depuis plusieurs décennies, nous avons pu constater à travers la littérature que les connaissances de l'impact des pyréthrinoïdes sur la santé restent encore parcellaires et nécessitent d'être confortées. Les effets sur le développement du système nerveux du futur enfant suite à une exposition prénatale avérée demeurent notamment mal connus. Au vu de ce constat, nous avons défini un protocole de recherche afin d'évaluer ce lien potentiel. Les troubles du neurodéveloppement qui peuvent s'expliquer par un mode d'action purement neurologique (les anomalies des canaux sodium), mécanisme bien documenté à ce jour, pourraient aussi, selon notre hypothèse de travail, être en lien avec un deuxième mode d'action, celui neuroendocrinien via les perturbations thyroïdiennes. Nous avons ainsi, dans un premier temps, défini une expérimentation animale afin d'évaluer le rôle de deux molécules de pyréthrinoïdes, la cyperméthrine et la perméthrine, en tant que possibles perturbateurs endocriniens thyroïdiens. Ces molécules seraient alors responsables d'un impact secondaire sur le développement du système nerveux d'un fœtus. Dans un second temps, nous avons mis au point une étude descriptive permettant d'évaluer l'imprégnation globale aux pyréthrinoïdes des femmes ayant un projet de grossesse. L'expertise menée conduira à évaluer le risque d'apparition de troubles du neurodéveloppement chez l'enfant en lien avec les résultats de la première phase d'étude, puis à identifier des mesures de prévention que les femmes pourraient mettre en œuvre pour limiter leur exposition.



## 6 Bibliographie

- <sup>1</sup> Mesnage et al. (2014) « Major Pesticides Are More Toxic to Human Cells than Their Declared Active Principles ». <https://doi.org/10.1155/2014/179691>
- <sup>2</sup> Smith et al. (2016) « Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases » <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.03.005>
- <sup>3</sup> Premières interprétations des résultats de la Campagne nationale exploratoire des pesticides (CNEP) dans l'air ambiant, 2020. <https://www.anses.fr/fr/system/files/AIR2020SA0030Ra.pdf>
- <sup>4</sup> Béranger et al. (2018) « Multiple pesticide analysis in hair samples of pregnant French women: Results from the ELFE national birth cohort. » <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.07.023>
- <sup>5</sup> Imprégnation de la population française par les pyréthrinoides. Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016 <https://www.santepubliquefrance.fr/import/impregnation-de-la-population-francaise-par-les-pyrethrinoides.-programme-national-de-biosurveillance-esteban-2014-2016>
- <sup>6</sup> Rapport d'expertise collective de l'ANSES sur l'étude de l'alimentation totale infantile (partie 2, tome 4 « Résultats relatifs aux résidus de pesticides »), 2016 <https://www.anses.fr/fr/system/files/ERCA2010SA0317Ra-Tome2-Part4.pdf>
- <sup>7</sup> Field et al. (2017) « Voltage-Gated Sodium Channels as Targets for Pyrethroid Insecticides » <https://doi.org/10.1007/s00249-016-1195-1>
- <sup>8</sup> Rehman et al. (2006) « The Modulatory Effect of Deltamethrin on Antioxidants in Mice » <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.01.010>
- <sup>9</sup> Wu et al. (2003) « Deltamethrin Induces Apoptotic Cell Death in Cultured Cerebral Cortical Neurons » [https://doi.org/10.1016/s0041-008x\(02\)00032-7](https://doi.org/10.1016/s0041-008x(02)00032-7)
- <sup>10</sup> Wu et Liu (2000) « Apoptotic Cell Death in Rat Brain Following Deltamethrin Treatment » [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(99\)00973-8](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(99)00973-8).
- <sup>11</sup> Soderlund et Bloomquist (1989) « Neurotoxic Actions of Pyrethroid Insecticides » <https://doi.org/10.1146/annurev.en.34.010189.000453>
- <sup>12</sup> Breckenridge et al. (2009) « Evidence for a Separate Mechanism of Toxicity for the Type I and the Type II Pyrethroid Insecticides » <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2009.09.002>.
- <sup>13</sup> Pitzer et al. (2021) « Effects of Pyrethroids on Brain Development and Behavior: Deltamethrin » <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2021.106983>.
- <sup>14</sup> Hénault-Ethier (2015). Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it. Executive summary and littérature review. [10.13140/RG.2.1.2304.8721](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2304.8721)
- <sup>15</sup> La pathologie revisitée par les canaux, Fournier (2014) <https://www.academie-medecine.fr/wp-content/uploads/2015/06/pages-225-242.pdf>
- <sup>16</sup> Inserm. Pesticides et effets sur la santé : Nouvelles données. Collection Expertise collective, 2021. <https://www.inserm.fr/wp-content/uploads/2021-07/inserm-expertisecollective-pesticides2021-rapportcomplet-0.pdf>
- <sup>17</sup> Horton et al. (2011) « Impact of Prenatal Exposure to Piperonyl Butoxide and Permethrin on 36-Month Neurodevelopment » <https://doi.org/10.1542/peds.2010-0133>
- <sup>18</sup> Furlong et al. (2017) « Prenatal Exposure to Pyrethroid Pesticides and Childhood Behavior and Executive Functioning » <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2017.08.005>

- <sup>19</sup> Fluegge et al. (2016) « Effects of Simultaneous Prenatal Exposures to Organophosphate and Synthetic Pyrethroid Insecticides on Infant Neurodevelopment at Three Months of Age » <https://doi.org/10.5281/zenodo.218417>
- <sup>20</sup> Viel et al. (2015) « Pyrethroid Insecticide Exposure and Cognitive Developmental Disabilities in Children: The PELAGIE Mother-Child Cohort » <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.05.009>
- <sup>21</sup> Dalsager et al. (2019) « 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 » <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108533>
- <sup>22</sup> Watkins et al. (2016) « Urinary 3-Phenoxybenzoic Acid (3-PBA) Levels among Pregnant Women in Mexico City: Distribution and Relationships with Child Neurodevelopment » <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.02.025>
- <sup>23</sup> Eskenazi et al. (2018) « Prenatal Exposure to DDT and Pyrethroids for Malaria Control and Child Neurodevelopment: The VHEMBE Cohort, South Africa » [10.1289/EHP2129](https://doi.org/10.1289/EHP2129)
- <sup>24</sup> Hisada et al. (2017) « Maternal exposure to pyrethroid insecticides during pregnancy and infant development at 18 months of age » [10.3390/ijerph14010052](https://doi.org/10.3390/ijerph14010052)
- <sup>25</sup> Oulhote et al. (2013) « Urinary Metabolites of Organophosphate and Pyrethroid Pesticides and Behavioral Problems in Canadian Children » [10.1289/ehp.1306667](https://doi.org/10.1289/ehp.1306667)
- <sup>26</sup> Quirós-Alcalá et al. (2014) « Pyrethroid Pesticide Exposure and Parental Report of Learning Disability and Attention Deficit/Hyperactivity Disorder in U.S. Children: NHANES 1999-2002 » [10.1289/ehp.1308031](https://doi.org/10.1289/ehp.1308031)
- <sup>27</sup> Wagner-Schuman et al. (2015) « Association of Pyrethroid Pesticide Exposure with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in a Nationally Representative Sample of U.S. Children » <https://doi.org/10.1186/s12940-015-0030-y>
- <sup>28</sup> Demeneix et al. (2016) « Le cerveau endommagé ; comment la pollution altère notre intelligence et notre santé mentale » ISBN : 978-2-7381-6046-1
- <sup>29</sup> Lupu et al. (2020) « The ENDpoiNTs Project: Novel Testing Strategies for Endocrine Disruptors Linked to Developmental Neurotoxicity » <https://doi.org/10.3390/ijms21113978>
- <sup>30</sup> Sinha et al. (2003) « Mosquito repellent (pyrethroid-based) induced dysfunction of blood–brain barrier permeability in developing brain » <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2003.10.005>
- <sup>31</sup> Seralini et al. (2021) « Endocrine Disruptors Also Function as Nervous Disruptors and Can Be Renamed Endocrine and Nervous Disruptors (ENDs) » <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.07.014>

## Annexe 1 : Description des substances actives des pyréthrinoïdes

Substance active du pyréthrinoïde de synthèse	Date d'homologation	Métabolite	Réglementation	Utilisation	Type d'aliments dans lesquelles on retrouve la substance active
Bifenthrine	1984		Interdite sur toutes les cultures en France	Traitement des sols Insecticide et acaricide	Aliments infantiles (potages, purées), eau du robinet
Perméthrine	1973		Autorisée mais restriction d'usages	Usage vétérinaire, utilisée dans le traitement des locaux et denrées et dans les bâtiments d'élevage	
Resméthrine	1967		Interdite		
Téfluthrine	1986		Autorisée mais restriction d'usages	Traitement des sols	

Tableau a : Pyréthrinoïdes de type 1

Substance active du pyréthrinoïde de synthèse	Date d'homologation	Métabolite	Réglementation	Utilisation	Type d'aliments dans lesquelles on retrouve la substance active
Cyfluthrine	1981	cis-DCCA et trans-DCCA (ou cis et trans Cl2CA) et FPBA	Interdite	Traitement des sols et des bâtiments d'élevage	Raisin blanc, viande de volaille, tomate, pomme, fruits, légumes
Gamma-cyhalothrine	2012		Interdite		
Lambda-cyhalothrine	1984		Autorisée	Traitement des sols	
Cyperméthrine	1975	cis-DCCA et trans-DCCA (ou cis et trans	Autorisée	Traitement des sols et des bâtiments d'élevage	
Deltaméthrine	1974	cis-DBCA (ou cis-Br2CA) et 3-PBA	Autorisée	Traitement des semences, des sols, des locaux et denrées et des bâtiments d'élevage	Aliments infantiles (potages, purées, Pots légumes viande ou légumes poisson), aliments courants
Esfenvalérate	1979	3-PBA	Autorisée	Traitement des sols	Aliments infantiles (potages, purées, Pots légumes viande ou légumes poisson)
Fluméthrine		F-PBA		Usage vétérinaire	
Fluvalinate	1980	3-PBA	Autorisée		Aliments infantiles (potages, purées, pots fruits, Pots légumes viande ou légumes poisson)

Tableau b : Pyréthrinoïdes de type 2