



Évaluation des expositions aux pyréthrinoïdes par la modélisation toxicocinétique de données de biosurveillance : application à la population générale française

Paul Quindroit

► To cite this version:

Paul Quindroit. Évaluation des expositions aux pyréthrinoïdes par la modélisation toxicocinétique de données de biosurveillance : application à la population générale française. Ecotoxicologie. Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France, 2019. Français. NNT : 2019IAVF0024 . tel-02957689

HAL Id: tel-02957689

<https://pastel.hal.science/tel-02957689>

Submitted on 5 Oct 2020

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.

NNT° : 2019 IAVF0024

THESE DE DOCTORAT

préparée à l'Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (AgroParisTech)
pour obtenir le grade de

Docteur de l'Institut agronomique vétérinaire et forestier de France

Spécialité : Sciences de la Vie et de la Santé

École doctorale n°581

Agriculture, alimentation, biologie, environnement et santé (ABIES)

par

Paul QUINDROIT

Évaluation des expositions aux pyréthrinoides par la modélisation toxicocinétique de données de biosurveillance : application à la population générale française

Directeur de thèse : Frédéric BOIS
Encadrant de thèse : Céline BROCHOT

Thèse présentée et soutenue à Paris, 18 novembre 2019 :

Composition du jury :

Mme Véronique BACH, Professeur des universités, Université de Picardie Jules Verne
Mme Nathalie BONVALLOT, Enseignant-chercheur (HDR), EHESP
M. Pascal SANDERS, Chercheur (HDR), ANSES
Mme Virginie DESVIGNES, Chargée de projet, ANSES
Mme Céline BROCHOT, Chercheur, INERIS
M. Frédéric BOIS, Chercheur (HDR), Certara

Présidente
Rapporteur
Rapporteur
Examinatrice
Encadrant de thèse
Directeur de thèse

Unité Modèle pour l'Écotoxicologie et la Toxicologie (METO)
INERIS, Parc technologique ALATA, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier sincèrement le Docteur Céline Brochot, mon encadrant de thèse, qui m'a accompagné avant et durant ma thèse. Un grand merci pour ton encadrement, ta patience, ton soutien du début à la fin, dans les bons comme dans les moins bons moments. Je te suis très reconnaissant pour les compétences et connaissances que j'en ai tirées.

Un grand merci au Docteur Frédéric Bois, mon directeur de thèse, pour le partage de son expérience, ses encouragements, *MCSim* et bien entendu sa bonne humeur.

Mes remerciements vont ensuite aux membres de mon jury, Professeur Véronique Bach et Docteur Virginie Desvignes, d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse. Je remercie le Docteur Nathalie Bonvallot et le Docteur Pascal Sanders de me faire l'honneur d'être les rapporteurs et ainsi d'apporter leur regard d'expert sur ma thèse.

Je remercie également mes collègues de l'unité Modèle pour l'Écotoxicologie et la Toxicologie (METO) et du pôle Dangers et impact sur le vivant (VIVA) de l'INERIS. Merci à Cléo pour son aide en statistique et en anglais, Enrico en QSAR et en chimie, Florence en modélisation toxicocinétique et Rémy en analyse de sensibilité. Merci à Éric Thybaud, responsable du pôle VIVA, pour m'avoir accueilli au sein de l'INERIS et à Caroline et Vanessa pour leur aide administrative.

Un merci amical à mes collègues et amis doctorants, Alice, Audrey, Corentin, Elias, Marc, Ségolène, Viviane et Wang, avec qui j'ai partagé bien plus que ma thèse. Merci à vous de m'avoir accompagné dans les moments difficiles mais surtout apporté tellement de rire et de joie.

Enfin, je veux remercier ma famille qui m'a toujours soutenu tout au long de mes études et surtout supporté dans tout ce que j'ai entrepris.

Table des matières

REMERCIEMENTS.....	3
LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES TABLEAUX.....	9
ABREVIATIONS	10
INTRODUCTION GENERALE	14
ÉTAT DE L'ART.....	19
1.1. La famille des pyréthrinoïdes	19
1.1.1. Historique et développement.....	19
1.1.2. Caractéristiques chimiques.....	20
1.1.3. Métabolisme des pyréthrinoïdes.....	22
1.1.4. Utilisations et produits	24
1.1.5. Mode d'action et toxicité.....	25
1.2. Estimation des expositions de la population générale aux pyréthrinoïdes.....	29
1.2.1. A partir des contaminations des milieux environnementaux.....	29
1.2.2. A partir des imprégnations des population	40
1.3. La modélisation toxicocinétique : un lien entre expositions et biomarqueurs	49
1.3.1. Modèles toxicocinétiques à base physiologique	49
1.3.2. Toxicocinétique des pyréthrinoïdes : données expérimentales et modélisation PBPK ..	63
1.4. Utilisation des modèles PBPK des pyréthrinoïdes dans le cadre de l'évaluation de l'exposition	77
1.4.1. Méthodologie	78
1.4.2. Application aux pyréthrinoïdes	83
OBJECTIFS.....	87
ESTIMATION DES EXPOSITIONS CUMULEES DES HUMAINS AUX PYRETHRINOÏDES PAR UN MODELE PBPK GLOBAL MULTIVOIES : APPLICATION A LA POPULATION FRANÇAISE	89
Estimating the cumulative human exposures to pyrethroids by combined multi-route PBPK models: Application to the French population.....	91
Abstract.....	92
Introduction	93
Materials and Methods.....	95

<i>Results</i>	107
<i>Discussion</i>	117
<i>Conclusions</i>	122
<i>References</i>	123
EXPOSITION CUMULEE ET AGREEE AUX PYRETHRINOÏDES EN FRANCE : COMPARAISON DES CONCENTRATIONS PREDITES ET MESUREES DES METABOLITES URINAIRES	131
A Cumulative and aggregate exposure to pyrethroids in France: comparison of modelled and measured urine metabolite concentrations.....	133
<i>Abstract</i>	134
<i>Introduction</i>	135
<i>Materials and Methods</i>	138
<i>Results</i>	153
<i>Discussion</i>	163
<i>Conclusion</i>	170
<i>References</i>	171
DEVELOPPEMENT D'UNE APPROCHE DE DOSIMETRIE INVERSE BASEE SUR LA MODELISATION PBPK POUR ESTIMER L'EXPOSITION DES POPULATIONS A UN MELANGE DE PYRETHRINOÏDES	179
A reverse dosimetry approach using physiologically based pharmacokinetic modeling to estimate the exposure of populations to pyrethroids in mixtures	181
<i>Abstract</i>	182
<i>Introduction</i>	183
<i>Materials and Methods</i>	187
<i>Results</i>	192
<i>Discussion</i>	199
<i>References</i>	203
DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES	209
REFERENCES	217
ANNEXES	239
Annexe 1: Matériel supplémentaire de l'article "Estimating the cumulative human exposures to pyrethroids by combined multi-route PBPK models: Application to the French population"	239
Annexe 2: Matériel supplémentaire de l'article "Aggregate exposure to pyrethroids in France: comparison of modelled and measured urine metabolite concentrations and	

cumulative risk assessment for neurotoxic effect”	248
Annexe 3: Matériel supplémentaire de l’article “A reverse dosimetry approach using physiologically based pharmacokinetic modeling to estimate the exposure of populations to pyrethroids in mixtures”	252
Annexe 4: Épreuves auteur “Modelling the Fate of Chemicals in Humans Using a Lifetime Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Model in MERLIN-Expo”	255
Annexe 5 : Épreuves auteur “Exposome : Vers une cartographie haut-débit des causes non-génétiques des maladies chroniques”	304
Annexe 6 : Valorisation des travaux de thèse	310

Liste des figures

Figure 1 : Évolution des ventes de pesticides en France entre 2011 et 2016 (tonnes) (Union Européenne, 2016).....	17
Figure 2: Structure chimique des six constituants des extraits de pyrèthre.....	20
Figure 3 : Structures de pyréthriinoïdes de type I et de type II	21
Figure 4: Diagramme des principales voies métaboliques de la perméthrine, cyperméthrine, cyfluthrine et deltaméthrine. Adapté de ATSDR (2003).	23
Figure 5: Sources d'exposition de la population générale aux pyréthriinoïdes.....	24
Figure 6: Voies et sources d'exposition aux substances chimiques (d'après ToxTutor).	30
Figure 7: Représentation schématique des liens entre la dose d'exposition et les concentrations dans les différents milieux biologiques comme le sang, les urines, les fèces, le lait, les cheveux, les ongles. Adapté de Hays <i>et al.</i> (2007).	41
Figure 8: Les pyréthriinoïdes et leurs métabolites 3-PBA, F-PBA, DCCA et DBCA. Adapté de Ueyama <i>et al.</i> (2010).	42
Figure 9: Schéma conceptuel du développement de valeurs de BE urinaire. FI _A : Facteurs d'incertitude inter-espèces, FI _H : Facteurs d'incertitude intra-espèces. Adapté de Hays <i>et al.</i> (2007).	46
Figure 10: Diagramme d'interprétation des valeurs BE de niveaux 1 et 2 pour la 3-PBA urinaire dans l'évaluation des données de biosurveillance de la population. Adapté de Aylward <i>et al.</i> (2018).	48
Figure 11: Exemple de modèle PBPK comprenant différents sites d'absorption et d'excrétion. Adapté de Beaudouin <i>et al.</i> (2010).	51
Figure 12 : Résultats de l'analyse de sensibilité locale de Mirfazaelian <i>et al.</i> (2006) pour la concentration maximale dans le cerveau et le sang.....	62
Figure 13 : Résultats de l'analyse de sensibilité globale (Grech <i>et al.</i> , 2019). Les indices de sensibilité de premier ordre sont représentés en bleu clair et les totaux totale en bleu foncé ..	62
Figure 14 : Structure chimique de la deltaméthrine	63
Figure 15 : Structure du modèle PBPK de la deltaméthrine chez le rat développé par Mirfazaelian <i>et al.</i> (2006).	65
Figure 16 : Structure du modèle PBPK de la deltaméthrine chez le rat et l'humain développé par Godin <i>et al.</i> (2010).	66
Figure 17 : Structure chimique de la <i>cis</i> -perméthrine.	67

Figure 18 : Structure chimique de la <i>trans</i> -perméthrine	67
Figure 19 : Structures des modèles PBPK de la perméthrine développés par Tornero-Velez <i>et al.</i> (2012), Wei <i>et al.</i> (2013) et Darney <i>et al.</i> (2018).....	69
Figure 20 : Structure chimique de la <i>cis</i> -cyperméthrine	72
Figure 21 : Structure chimique de la <i>trans</i> -cyperméthrine.....	72
Figure 22 : Structure chimique de la <i>cis</i> -cyfluthrine	74
Figure 23 : Structure chimique de la <i>trans</i> -cyfluthrine	74
Figure 24 : Représentation graphique de l'utilisation de la modélisation PBPK en évaluation du risque. Adapté de Clewell <i>et al.</i> (2008).....	77
Figure 25 : Présentation schématique de l'approche déterministe et probabiliste	79
Figure 26 : Continuum de l'évaluation de l'exposition externe à l'exposition interne	80

Liste des tableaux

Tableau 1 : Études d'évaluation de l'exposition aux pyréthrinoïdes chez l'enfant et l'adulte.	38
Tableau 2 : Principaux pyréthrinoïdes utilisés couramment et leurs métabolites correspondants.....	42
Tableau 3 : Concentrations urinaires des métabolites des pyréthrinoïdes en France, en Allemagne et en Amérique du Nord.....	44
Tableau 4: Clairances intrinsèque déterminées par méthodes in vitro pour les pyréthrinoïdes (L/h/kg).....	58

Abréviations

ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ANSES	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ATSDR	Agence pour l'enregistrement des substances toxiques et des maladies (Agency for Toxic Substances and Disease Registry)
BE	Équivalent de biosurveillance (<i>Biomonitoring Equivalent</i>)
CFMP	Acide- <i>cis</i> -3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)- 2,2diméthylcyclopropane carboxylique
DBCA	Acide- <i>cis</i> -3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique
DCCA	Acide-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique
DJA	Dose journalière admissible
DJE	Dose journalière d'exposition
DGCCRF	Direction générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des fraudes
EAT 2	Étude de l'alimentation totale 2
EFSA	Autorité européenne de sécurité des aliments (European Food Safety Authority)
ENNS	Étude nationale nutrition santé
FCE	Facteur de Conversion d'Exposition

FI _A	Facteurs d'incertitude inter-espèces
FI _H	Facteurs d'incertitude intra-espèces
HBM	Valeurs de biosurveillance humaine <i>(Human BioMonitoring values)</i>
INSERM	Institut national de la santé et de la recherche médicale
INSPQ	Institut national de santé publique du Québec
IPCS	Programme international sur la sécurité des substances chimiques <i>(International Programme on Chemical Safety)</i>
JMPR	Réunion conjointe FAO/OMS sur les résidus de pesticides <i>(Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues)</i>
LCSQA	Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air
LOD	Limite de détection <i>(Limit of detection)</i>
LOQ	Limite de quantification <i>(Limit of quantification)</i>
MCMC	Monte Carlo par Chaînes de Markov
NHANES	Étude nationale sur la santé et la nutrition <i>(National Health and Nutrition Examination Survey)</i>
4'-OH-PBA	Acide 4-hydroxy-3-phénoxybenzoïque
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
3-PBA	Acide 3-phénoxybenzoïque
F-PBA	Acide 4-fluoro-3-phénoxybenzoïque
PBPK	Modèles pharmacocinétique à fondement physiologique <i>(Physiologically Based Pharmacokinetic models)</i>

PoD	Point de départ <i>(Point of Departure)</i>
QR	Quotient de Risque
QSAR	Relation quantitative structure à activité <i>(Quantitative structure-activity relationship)</i>
SHEDS	Exposition humaine stochastique et de simulation de dose <i>(Stochastic Human Exposure and Dose Simulation)</i>
Si	Indice de premier ordre
STi	Indice d'ordre total
US EPA	Agence américaine de protection de l'environnement <i>(United States Environmental Protection Agency)</i>

Introduction générale

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), deux tiers de la population mondiale décèdent aujourd'hui de maladies chroniques, en particulier cardiovasculaires et cancéreuses. Ces maladies sont causées par une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. Les expositions aux facteurs environnementaux sont extrêmement variées, changeantes et complexes, et la part des maladies chroniques qui leur est attribuable est très mal connue (OMS, 2014). La proportion du nombre total de décès imputables à des facteurs environnementaux est estimée entre 13 % et 34 % des décès mondiaux (Prüss-Ustün *et al.*, 2017). Ainsi, l'impact de l'environnement sur la santé humaine est devenu un sujet majeur de préoccupation auprès des populations et d'action pour les autorités gouvernementales. La charte française de l'environnement, annexée à la Constitution, mentionne dans son article 1 que : « Chacun a le droit de vivre dans un environnement équilibré et respectueux de la santé ».

Le concept de santé environnementale a été défini lors de la deuxième conférence européenne sur l'environnement et la santé qui s'est tenu à Helsinki en 1994 : « La santé environnementale comprend les aspects de la santé humaine, y compris la qualité de la vie, qui sont déterminés par les facteurs physiques, chimiques, biologiques, sociaux, psychosociaux et esthétiques de notre environnement. Elle concerne également la politique et les pratiques de gestion, de mitigation, de contrôle et de prévention des facteurs environnementaux susceptibles d'affecter la santé des générations actuelles et futures ». La recherche en santé environnementale vise à recenser les facteurs environnementaux, établir des liens entre expositions mesurées et maladies chroniques, déduire les risques pour la santé humaine et développer des politiques de santé publique appropriées.

L'évaluation des risques sanitaires liée à une exposition à des facteurs environnementaux permet d'établir ces liens. C'est une démarche d'aide à la décision fondée sur l'estimation quantitative et qualitative de risques incertains. Cette démarche scientifique cherche à objectiver des questions complexes en dépassant l'incertitude, en proposant une gestion par l'évaluation de l'ampleur et de la probabilité des dangers ainsi que par la comparaison des risques et des bénéfices. Elle permet alors aux décideurs d'établir une norme d'exposition ou des règles de fonctionnement. Elle est devenue depuis les années 1980, le socle sur lequel s'appuient les activités d'expertise et de régulation des agences des différents pays. Elle

implique généralement une approche multidisciplinaire impliquant des physiciens, toxicologues, biologistes, modélisateurs mathématiques et des spécialistes des sciences sociales. L'évaluation des risques, telle que pratiquée aujourd'hui, s'inspire du *Red Book* publié par le National Research Council américain en 1983 (NRC, 1983). L'évaluation des risques sanitaires se base sur les connaissances en toxicologie, l'épidémiologie et suit un processus qui comprend les étapes suivantes :

1. Identification des dangers : caractérisation des effets toxiques intrinsèques aux substances chimiques ;
2. Relation dose-réponse : caractérisation de la relation entre les doses et l'incidence des effets indésirables chez les populations exposées ;
3. Évaluation de l'exposition : mesure ou estimation de l'intensité, de la fréquence et de la durée des expositions humaines aux substances chimiques ;
4. Caractérisation des risques : estimation de l'incidence des effets sur la santé dans les diverses conditions d'exposition humaine.

L'évaluation des risques doit être distinguée de la gestion des risques, c'est-à-dire de la décision réglementaire. Les décisions en matière de gestion des risques sont reconnues comme fondées non seulement sur l'évaluation des risques toxicologiques, mais aussi sur des évaluations économiques, juridiques et politiques.

En particulier, l'étape de l'évaluation de l'exposition est particulièrement cruciale dans l'évaluation des risques sanitaires liés à une exposition chimique. En effet, celle-ci a été définie comme étant le processus d'estimation ou de mesure de la fréquence et de la durée d'exposition à un agent en prenant en compte les caractéristiques de la population exposée (OMS/IPCS, 2004). Idéalement, l'évaluation de l'exposition décrit les sources des incertitudes (OMS/IPCS, 2004). Les principales sources d'exposition comprennent les activités industrielles et agricoles, la production d'énergie et de transport et la gestion des déchets, mais il existe également des sources naturelles (éruptions volcaniques, *etc.*). D'autres sources d'exposition sont liées à l'exposition professionnelle. Les personnes peuvent être exposées par l'air ambiant, les aliments, l'eau potable, les sédiments, le sol, les poussières et les particules, les produits de consommation et les matériaux de construction contaminés. La dissémination, la transformation et le transport des contaminants de l'environnement ainsi que des facteurs physiologiques (par

exemple, âge et poids corporel) et d'autres facteurs individuels liés aux habitudes et au mode de vie, influenceront à la fois l'exposition et la dose.

Parmi les substances les plus étudiées en évaluation des risques sanitaires, les pesticides représentent une partie importante des substances chimiques concernées par l'évaluation de l'exposition. Ils regroupent l'ensemble des substances chimiques utilisées pour prévenir, contrôler ou éliminer des organismes jugés indésirables, comme les plantes, animaux, champignons ou bactéries. Ainsi, les produits désinfectants sont considérés comme des pesticides (biocides) tout comme l'ensemble des produits antiparasitaires ou les produits de protection du bois, du cuir, du métal... Majoritairement utilisés en agriculture, ils sont classés par type d'usage : herbicides, insecticides, fongicides, nématicides et rodenticides. La plupart de ces pesticides sont des molécules organiques de synthèse.

La France est le premier pays agricole de l'Union Européenne, aussi bien en termes de surface agricole utile ou utilisée (29 millions d'hectares en 2010), qu'en termes de chiffres d'affaires de production agricole (69 milliards d'euros en 2011) (Ministère Agriculture, 2015). D'autre part, la France est le deuxième plus gros consommateur européen de pesticides (72 016 tonnes) derrière l'Espagne (76 908 tonnes) en 2016 (Union Européenne, 2016). 500 substances actives qui entrent dans la formulation de près de 3 000 produits sont aujourd'hui commercialisées pour les différentes productions françaises. Ceux-ci bénéficient d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) délivrée par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail (ANSES) après une procédure d'évaluation des risques pour le consommateur, l'utilisateur et l'environnement. Les pesticides sont des substances dites ubiquitaires. En effet, contrairement à d'autres polluants d'origine industrielle, les pesticides sont volontairement épandus dans l'environnement et peuvent entraîner ainsi une contamination considérable des écosystèmes. En 2013, l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) a réalisé un bilan de la littérature scientifique sur les risques sanitaires associés à l'exposition aux pesticides. Des associations positives entre l'exposition professionnelle à des pesticides et des pathologies telles que la maladie de Parkinson, le cancer de la prostate et un lymphome non Hodgkinien ont été mises en évidence dans le rapport (INSERM, 2013). De plus, la période prénatale, périnatale et la petite enfance sont identifiées comme des fenêtres de vulnérabilité pour l'exposition aux pesticides avec notamment des risques de troubles neuro-développementaux et de leucémie chez l'enfant (INSERM, 2013).

Parmi les pesticides, les insecticides représentent la troisième catégorie de la vente des substances actives autorisées en France, derrière les herbicides et les fongicides (Figure 1). Les

insecticides de première génération, les organochlorés (DDT, lindane), malgré une toxicité aiguë faible chez l'humain, sont des substances très stables et bioaccumulables chez l'humain et dans l'environnement. C'est pourquoi ils ont été interdits au cours des années 1970. Les organophosphorés (parathion, chlorpyrifos) sont à l'inverse très toxiques (neurotoxique) pour l'humain, moins bioaccumulables chez l'humain et peu rémanents dans l'environnement. Aujourd'hui, ces substances sont beaucoup moins utilisées qu'auparavant en France, avec des usages très restreints, en particulier en ce qui concerne les usages agricoles. À la suite de la reconnaissance de l'impact sanitaire et environnemental de ces deux familles chimiques, ont émergé dans les années 1970-1980, les pyréthrinoides de synthèse basés sur la structure des pyrèthres naturels. La famille des pyréthrinoides représente une vingtaine de composés majoritairement utilisés. Peu persistants dans l'environnement, ils présentent l'avantage d'être moins toxiques pour l'humain et de posséder une plus grande efficacité envers la cible, les insectes. De plus, ils sont également présents dans notre environnement quotidien comme principes actifs de spécialités antipoux ou de médicaments vétérinaires et comme matières actives d'insecticides ménagers, produits de jardinage ou encore xyloprotecteurs.

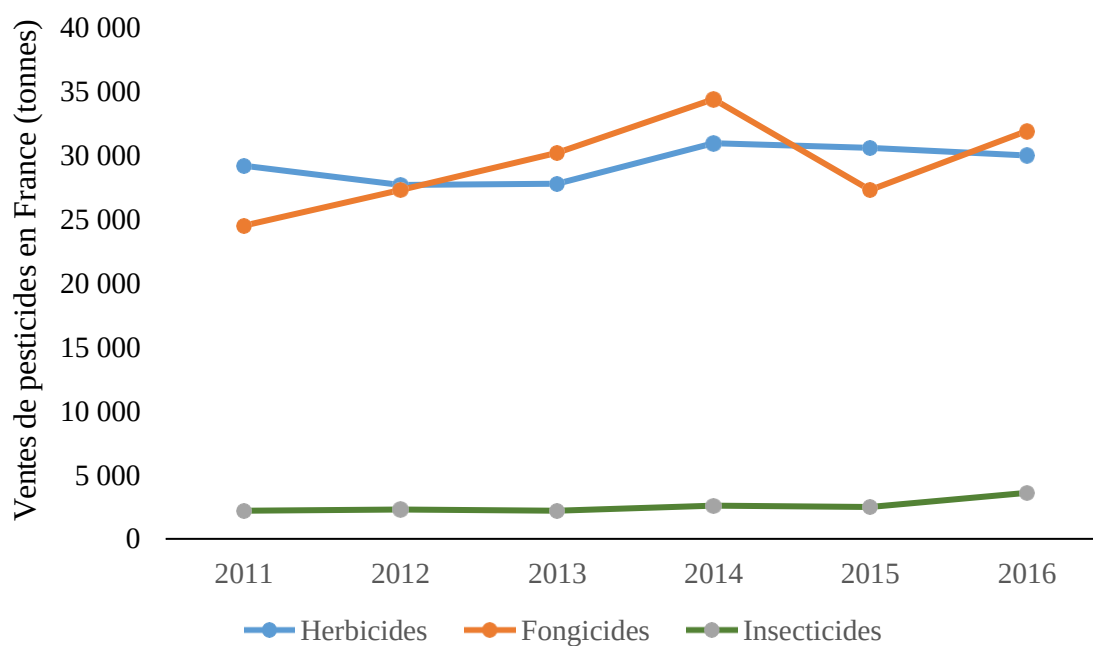


Figure 1 : Évolution des ventes de pesticides en France entre 2011 et 2016 (tonnes) (Union Européenne, 2016).

La population est exposée quotidiennement non pas à un seul composé pyréthrinoides mais à un mélange et par différentes voies d'exposition. Il est donc important de prendre en compte les effets cumulés. Ces composés de la même famille sont supposés avoir des mécanismes d'action similaires. En France, les études de biosurveillance qui permettent d'évaluer le degré

d'exposition aux substances chimiques présentes dans l'environnement, se sont intéressées à évaluer l'exposition aux pyréthrinoïdes. Ces études ont pour but d'améliorer ainsi les connaissances sur les expositions grâce à des mesures de biomarqueurs reflétant l'exposition totale chez l'humain aux polluants de l'environnement. Les biomarqueurs mesurés intègrent les parts respectives de tous les modes d'exposition, de toutes les sources, quelles que soient les voies d'entrée des substances dans le corps humain, quels que soient le lieu d'exposition, l'activité ou la nature des produits consommés. Ils sont aussi influencés par les différences physiologiques entre individus (respiration, métabolisme, *etc.*) ainsi que les facteurs associés au comportement et aux activités de chacun (micro-environnements, hygiène, usage de produits de consommation, *etc.*). Pour les pyréthrinoïdes, établir un lien entre les substances auxquelles sont exposés les individus et leurs métabolites est particulièrement complexe du fait que certains biomarqueurs sont communs à plusieurs substances (Ueyama *et al.*, 2010).

Dans ce travail, nous proposons tout d'abord de décrire la structure chimique, l'utilisation, le mode d'action et les effets toxiques, l'expologie, la biosurveillance, la toxicocinétique et la modélisation des pyréthrinoïdes. Puis deux approches par modélisation toxicocinétique permettant de mieux caractériser l'exposition de la population à partir de données de biosurveillance seront décrites.

État de l'art

Un état des connaissances des différents thèmes abordés lors de ce travail de recherche est présenté dans cet état de l'art. Dans une première partie, les caractéristiques des composés de la famille des pyréthrinoïdes seront présentées. L'estimation des expositions de la population générale aux pyréthrinoïdes fera ensuite l'objectif d'une deuxième partie. Enfin, la troisième partie présentera la modélisation toxicocinétique et son utilisation dans le cadre de l'évaluation de l'exposition pour les pyréthrinoïdes.

1.1. La famille des pyréthrinoïdes

1.1.1. Historique et développement

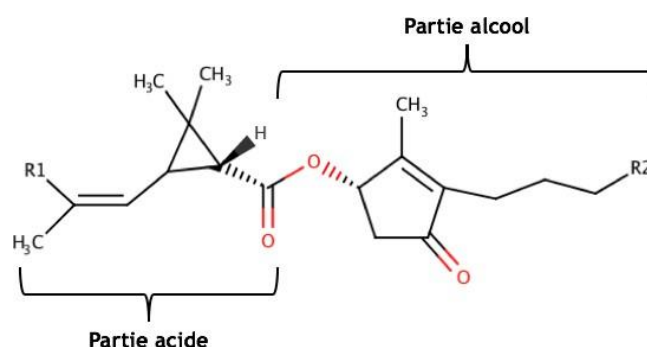
La première utilisation des pyréthrines remonte à plusieurs milliers d'années pour leurs qualités antiparasitaires (Richou-Bac et Venant, 1985). Elles sont aujourd'hui principalement dérivées de la plante *Chrysanthemum cinerariaefolium* et sont composées d'un mélange des six molécules formant l'extrait naturel (Casida, 1980). Dans les années 1940, les recherches sur les structures de ces molécules ont permis de créer par hémisynthèse des composés analogues. Afin d'augmenter l'efficacité des pyréthrines, elles sont utilisées en combinaison avec du butoxyde de piperonyl (Piperonyl butoxide (PBO), 5-[2-(2-butoxyethoxy)ethoxymethyl]-6-propyl-1,3-benzodioxole), qui est un inhibiteur du Cytochrome P450. Associées au PBO, les pyréthrines sont plus efficaces contre les insectes, mais leur caractère photolabile les rend instables dans l'environnement. Afin d'y remédier, de nombreuses modifications de la structure chimique des pyréthrines naturelles ont été réalisées au fil des années. Les pyréthrinoïdes sont des insecticides de synthèse ayant un noyau structural similaire à celui des pyréthrines mais qui se dégradent moins rapidement dans l'environnement et possèdent une toxicité plus faible chez les humains. Le premier pyréthrinoïde à avoir été exploité fut l'alléthrine en 1949 (Sanders et Taff, 2002). Au cours des années 1960-1970, d'autres pyréthrinoïdes ont été développés dont la perméthrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine et le fenvalérate (Casida, 1980). Ces quatre pyréthrinoïdes étaient les premiers à pouvoir être utilisés en agriculture et en répulsif contre les moustiques parce qu'ils étaient plus résistants à la photodégradation. Depuis, de nombreuses autres molécules ont été synthétisées.

Plusieurs modifications ont été apportées à la structure des pyréthrinoïdes de synthèse (Soderlund *et al.*, 2002). La liaison insaturée sur la partie alcool a été remplacée par un cycle aromatique et des groupements halogénés (chlore et/ou fluor) sur la partie acide ont été introduits à la place des groupements méthyles. Ces modifications ont ainsi optimisé la stabilité des composés dans l'environnement (perméthrine, phénotrène).

Puis, la puissance insecticide a été accrue par l'instauration d'un groupement cyano en position 1 de la partie alcool, combinée à la modification successive de la nature des groupements halogénés. Une première catégorisation des pyréthrinoïdes a alors été réalisée : les pyréthrinoïdes ne présentant pas de groupement cyano appartiennent aux pyréthrinoïdes de type I (la perméthrine ou la bifenthrine). Le type II désigne les pyréthrinoïdes possédant un groupement cyano (la deltaméthrine, la cyperméthrine, la cyhalothrine ou la cyfluthrine) (Lawrence et Casida, 1982).

1.1.2. Caractéristiques chimiques

Les pyréthrinoïdes sont composés de deux fractions structurales de base : une partie acide et une partie alcool reliées par une liaison ester. La Figure 2 présente la structure chimique des six constituants des extraits de pyrèthre.



Esters de l'acide chrysanthème			Esters de l'acide pyrèthre		
Composés	R1	R2	Composés	R1	R2
Pyréthrine I	CH ₃	CHCH ₂	Pyréthrine II	CH ₃ OC(O)	CHCH ₂
Cinérine I	CH ₃	CH ₃	Cinérine II	CH ₃ OC(O)	CH ₃
Jasmoline I	CH ₃	CH ₂ CH ₂	Jasmoline II	CH ₃ OC(O)	CH ₂ CH ₂

Figure 2: Structure chimique des six constituants des extraits de pyrèthre.

Pour les pyréthrinoïdes de première génération, tels que l'alléthrine, la tétraméthrine et la réséméthrine, la partie acide est à base d'acide chrysanthémique, un cycle cyclopropane lié à un fragment acide carboxylique et à une variété de substituants halogénés et non halogénés. Les pyréthrinoïdes développés plus récemment, tels que le fenvalérate, n'ont pas de cycle cyclopropane.

La partie alcool est un alcool primaire ou secondaire lié à diverses structures hétérocycliques. De plus, plusieurs pyréthrinoïdes ont un substituant cyano lié à l' α -méthylène de l'alcool. Les pyréthrinoïdes dépourvus du substituant cyano sont généralement appelés composés du type I et les pyréthrinoïdes portant le substituant cyano sont appelés composés du type II. La Figure 3 présente les structures de pyréthrinoïdes de type I, la bifenthrine, la perméthrine, la téfluthrine et de pyréthrinoïdes de type II, la cyfluthrine, la lambda-cyhalothrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine, la fenvalérate et la flucythrinate.

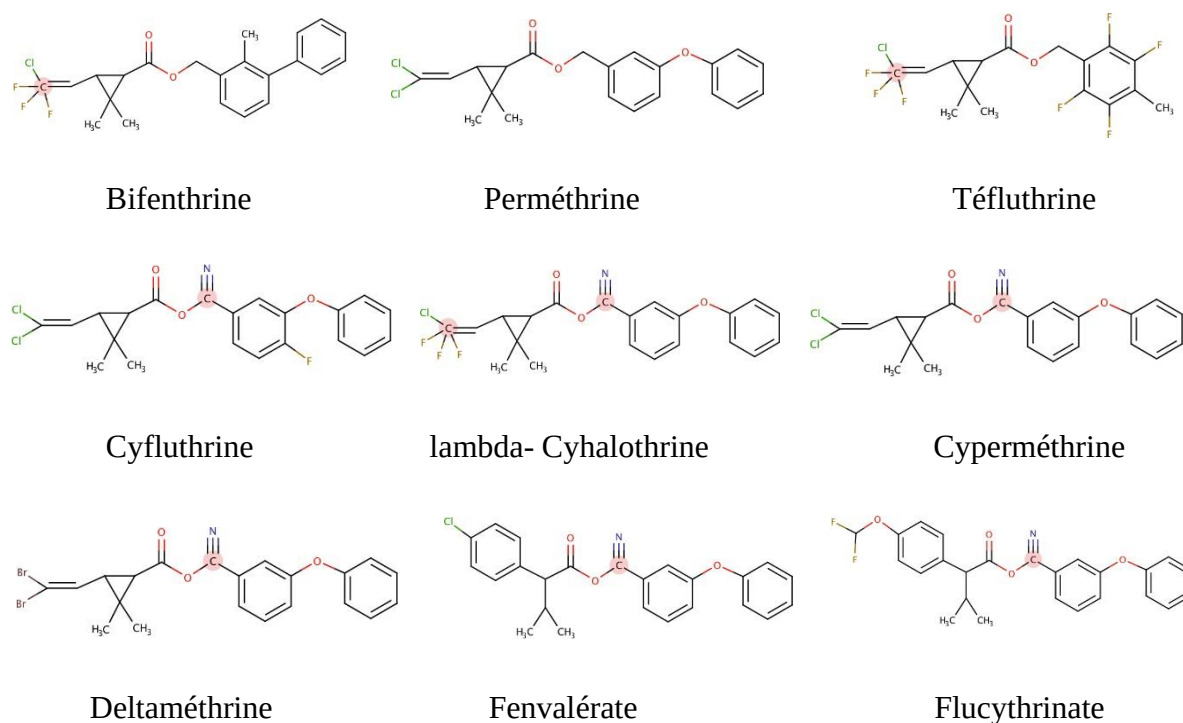


Figure 3 : Structures de pyréthrinoïdes de type I et de type II.

Les pyréthrinoïdes communément disponibles dans le commerce comprennent l'alléthrine, la bifenthrine, la bioresméthrine, la cyfluthrine, la cyhalothrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine, l'esfenvalérate, le flucythrinate, la fluméthrine, le fluvalinate, la fenpropathrine, la perméthrine, la phénothrine, la resméthrine, la tétraméthrine et la tralométhrine.

Les pyréthrinoïdes se retrouvent sous la forme d'un mélange complexe d'isomères, compris entre 1 à 8. La chiralité de la molécule vient du groupement acide. Ce groupement possède deux carbones asymétriques en position 1 et 3 du groupement cyclopropane.

Les pyréthrinoïdes commercialisés présentent des rapports d'isomères de différents composés. Par exemple, la cyperméthrine est formulée sous quatre formes différentes (alpha-, bêta-, théta- et zéta-cyperméthrine) en fonction du rapport entre les différents isomères et chacun de ces produits a des propriétés toxicologiques différentes (Tomlin, 1997). La production de pyréthrinoïdes avec des rapports isomériques différents est l'une des raisons de la grande variation des toxicités rapportées de ces composés (Yang *et al.*, 2009).

1.1.3. Métabolisme des pyréthrinoïdes

Les données *in vivo* sur le métabolisme des composés des pyréthrinoïdes de type I et de type II chez l'humain reposent sur l'identification de métabolites des pyréthrinoïdes détectés dans l'urine et le sang et obtenus dans un petit nombre d'études menées dans des conditions contrôlées. En revanche, le métabolisme des pyréthrinoïdes a été largement étudié chez plusieurs animaux.

Chez les mammifères, tous les composés pyréthrinoïdes sont dégradés par des processus métaboliques similaires. Lors de l'administration de pyréthrinoïdes aux mammifères, la biotransformation se produit par hydrolyse de la liaison ester centrale, par des attaques oxydantes sur plusieurs sites et par des réactions de conjugaison produisant un ensemble complexe de métabolites hydrosolubles primaires et secondaires excrétés par voie urinaire et biliaire (Casida *et al.*, 1983; Leng *et al.*, 1999). Il est largement admis que le métabolisme entraîne la formation de composés qui ne présentent que peu ou pas de toxicité démontrable, bien que la formation d'intermédiaires réactifs ou toxiques ne puisse être exclue et que le clivage de la liaison ester entraîne une détoxification (Hutson, 1979). Pour les pyréthrinoïdes halogénés (de type II), le clivage hydrolytique rapide de la liaison ester est suivi d'une oxydation pour donner des dérivés d'acide carboxylique et des dérivés d'acide phénoxybenzoïque (Leng *et al.*, 1997b, 1997a). Ces métabolites sont en général excrétés sous forme d'alcools, de phénols, d'acides carboxyliques et leurs conjugués glycine, sulfate, glucuronide ou glucoside (Apréa *et al.*, 1997; Casida *et al.*, 1983). La Figure 4 présente les principales voies métaboliques de la perméthrine, de la cyperméthrine, de la cyfluthrine et de la deltaméthrine.

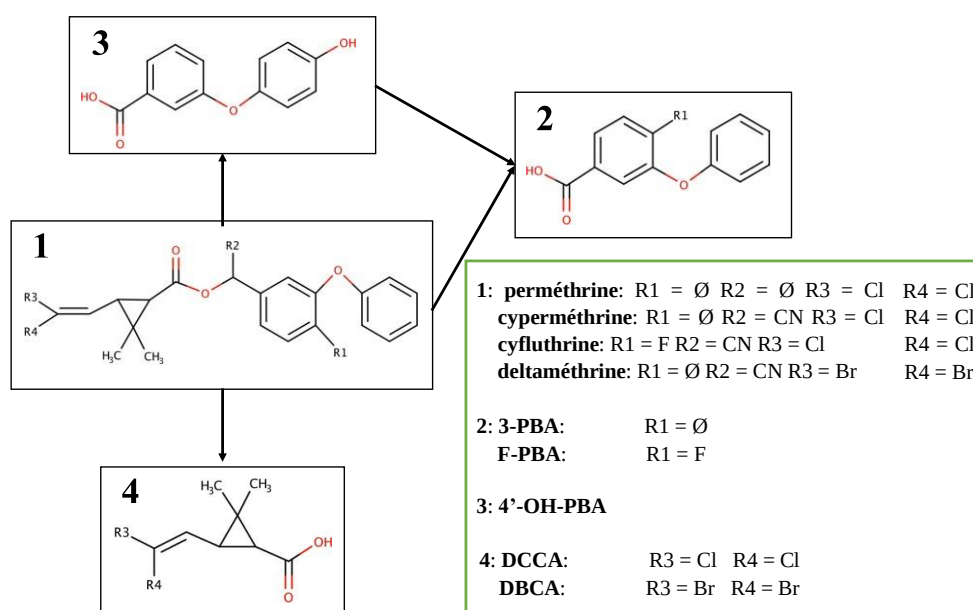


Figure 4: Diagramme des principales voies métaboliques de la perméthrine, cyperméthrine, cyfluthrine et deltaméthrine. Adapté de ATSDR (2003).

Cependant, selon le type de composé pyréthrinoïde, l'oxydation ou l'hydrolyse peuvent prédominer (Miyamoto *et al.*, 1968). Il a été montré que la présence du groupe alpha-cyano des composés pyréthrinoïdes de type II diminue la vitesse de coupure hydrolytique de la liaison ester (Casida *et al.*, 1983). Un nombre important d'énantiomères *trans* des composés pyréthrinoïdes sont métabolisés principalement par clivage hydrolytique de la liaison ester, avec oxydation et/ou conjugaison ultérieure des composants alcool et composants acides, alors que certains énantiomères *cis* résistent mieux à l'hydrolyse et se dégradent par oxydation (Miyamoto *et al.*, 1968; Shono *et al.*, 1979). Afin d'étudier une potentielle interaction entre les isomères des pyréthrinoïdes, Willemin *et al.* (2015) ont testé l'effet de la co-incubation des deux isomères (*cis* et *trans*) sur les hépatocytes primaires humains. Les résultats montrent que la co-incubation ne diffère pas des estimations obtenues avec une incubation séparée. Après absorption simultanée chez des volontaires de deltaméthrine et de chlorpyrifos-méthyl (insecticide de la famille des organophosphorés), il ne semble pas qu'il y ait d'interactions métaboliques entre ces deux composés (Sams et Jones, 2011).

Le métabolisme semble impliquer des carboxyestérases microsomales non spécifiques et des oxydases à fonction mixte microsomale, qui sont localisées dans presque tous les types de tissus (Casida *et al.*, 1983; Miyamoto *et al.*, 1968; Shono *et al.*, 1979). Étant donné que les enzymes

microsomales jouent un rôle important dans le métabolisme des pyréthrinoïdes, de nombreux types de tissus pourraient potentiellement métaboliser rapidement ces composés, le rôle du foie étant particulièrement important. Les résultats d'études chez le rat indiquent que des métabolites des pyréthrinoïdes sont produits dans le tractus gastro-intestinal (Tomigahara *et al.*, 1994; Willemin *et al.*, 2016). Les métabolites de la perméthrine ont été retrouvés dans les fèces après administration orale chez le rat, suggérant la possibilité d'un métabolisme dans le tractus gastro-intestinal ou de l'élimination fécale des métabolites formés après l'absorption (Gaughan *et al.*, 1977). Enfin, Hughes et Edwards (2010) ont analysé la peau de rat traitée à la bifenthrine, deltaméthrine et *cis*-perméthrine pour déterminer si le métabolisme des pyréthrinoïdes avait lieu. Seuls les composés parents ont été détectés dans les extraits de peaux de rat traités.

1.1.4. Utilisations et produits

Les pyréthrinoïdes sont des molécules que l'on trouve le plus souvent sous forme liquide ou solide. Les valeurs de solubilité dans l'eau sont très faibles, rendant plusieurs pyréthrinoïdes insolubles dans un milieu aqueux. Les pressions de vapeurs, qui permettent de caractériser leur volatilité, sont également très faibles (ATSDR, 2003). Les composés commerciaux ne contiennent qu'un certain pourcentage d'ingrédients actifs généralement compris entre 5 et 35 % (Matsuo et Mori, 2012). La durée de leur demi-vie dans l'environnement se situe entre 2 et 97 jours (ATSDR, 2003). La population est exposée aux pyréthrinoïdes à partir de nombreuses sources environnementales et par les trois voies d'exposition, soit l'ingestion, l'inhalation et le contact cutané (Figure 5).

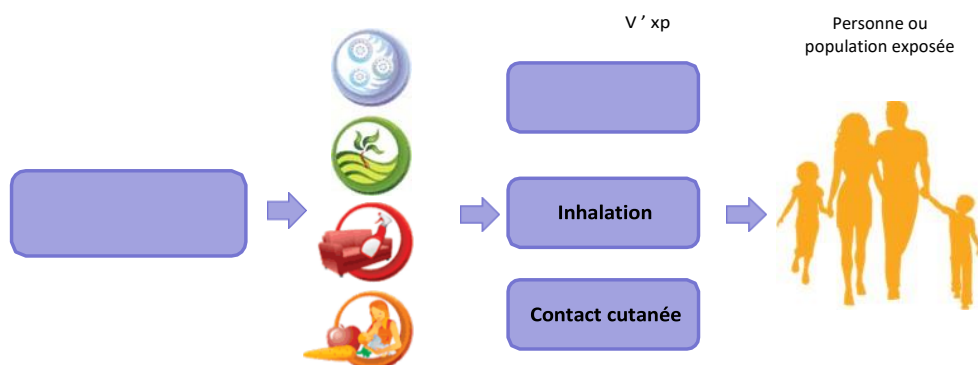


Figure 5: Sources d'exposition de la population générale aux pyréthrinoïdes.

La voie orale est la principale source d'exposition, principalement *via* l'alimentation (Juraske *et al.*, 2009; Riederer *et al.*, 2008; Schettgen *et al.*, 2002). De nombreux produits ménagers

utilisés pour lutter contre les insectes, tels que les bombes aérosols, les insecticides en aérosol et les shampoings pour animaux de compagnie, contiennent des pyréthrinoïdes et, par conséquent, des expositions cutanées et par inhalation sont rendues possibles.

1.1.5. Mode d'action et toxicité

L'organe cible principal des pyréthrinoïdes est l'ensemble du système nerveux. Il a été montré que les pyréthrinoïdes sont jusqu'à 2 250 fois plus toxiques chez l'insecte que chez les vertébrés, notamment en raison de leur plus petite taille, de leur température corporelle plus basse et au niveau cellulaire, de canaux sodiques plus sensibles (Bradberry *et al.*, 2005). Dans la suite, nous présentons le mode d'action des pyréthrinoïdes sur le système nerveux et les principaux effets néfastes observés lors d'études *in vivo* animales ou chez l'humain lors d'études épidémiologiques, notamment.

1.1.5.1. Mode d'action

Les pyréthrinoïdes ont comme cible d'action les canaux sodiques dans les membranes cellulaires des systèmes nerveux des insectes. La toxicité aiguë est principalement due au maintien de l'activation de canaux sodium voltage-dépendants. Lors d'une exposition au pyréthrinoïdes, le temps d'ouverture des canaux sodiques est prolongé, permettant un passage plus important d'ions sodium et causant une dépolarisation de la membrane neuronale (Ray et Forshaw, 2000; Shafer *et al.*, 2005). En maintenant ces canaux ouverts, les pyréthrinoïdes bloquent ainsi les impulsions nerveuses normales, paralysant l'insecte pour finalement le tuer. Les pyréthrinoïdes de type I prolongent l'ouverture des canaux induisant plusieurs potentiels d'actions répétitifs. Les pyréthrinoïdes de type II maintiennent les canaux tellement longtemps ouverts que le potentiel membranaire devient totalement dépolarisé et que la génération de potentiels d'action n'est plus possible.

1.1.5.2. Toxicité aiguë

Les pyréthrinoïdes ont un effet sur le système nerveux central et périphérique (Kühn *et al.*, 1999). Les symptômes neurotoxiques provoqués par une intoxication aux pyréthrinoïdes du type I correspondent à des tremblements alors que ceux du type II sont associés au syndrome dit CS pour salivation et choréo-athétose (maladie nerveuse se traduisant par des contractions musculaires, parfois lentes, parfois brusques, entraînant des mouvements désordonnés du corps) (Soderlund *et al.*, 2002).

La toxicité aiguë par exposition cutanée entraîne des paresthésies, en particulier au visage, liées à l'hyperactivité des fibres nerveuses sensorielles cutanées (Bradberry *et al.*, 2005). L'exposition par ingestion peut provoquer des maux de gorge, des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales, ainsi que des ulcérations de la bouche, une augmentation des sécrétions et/ou une difficulté à avaler (Bradberry *et al.*, 2005). Les effets systémiques apparaissent généralement dans l'heure qui suit l'exposition et atteignent leur maximum dans un délai de 4 à 8 heures (US EPA, 2004a). Les symptômes disparaissent dans un délai de 12 à 48 heures (US EPA, 2004a). Les vertiges, les maux de tête et la fatigue sont fréquents. *A contrario*, les palpitations, une oppression thoracique et une vision floue le sont moins (Bradberry *et al.*, 2005).

Des agents de bord ayant été exposés aux pyréthrinoïdes lors de traitement des cabines des avions ont rapporté une irritation de la peau et des muqueuses, des maux de gorge, des vomissements, des douleurs abdominales, des maux de tête, des vertiges et des nausées (Wei *et al.*, 2012). D'autre part, des producteurs agricoles ayant pulvérisé des pyréthrinoïdes ont présenté des sensations de brûlure et de picotement au niveau du visage, des vertiges, des maux de tête, de la fatigue, des nausées et une perte d'appétit (Chen *et al.*, 1991). Dans les études de toxicité orale, la dose létale médiane (DL50) est d'environ 55 mg/kg poids corporel/jour avec la bifenthrine ou la lambda-cyhalothrine, mais la phénothrine et l'etofenprox nécessitent près de 200 fois cette dose (> 10 000 mg/kg poids corporel/jour) (OMS, 2005). La lambda-cyhalothrine et l'alpha-cyperméthrine apparaissent comme les substances les plus toxiques (> 100 et 632 mg/kg poids corporel/jour, respectivement) (OMS, 2005). À fortes doses, des tremblements et convulsions peuvent survenir pouvant même conduire au coma (Bradberry *et al.*, 2005).

1.1.5.3. Toxicité chronique

Chez les animaux, les effets chroniques des pyréthrinoïdes incluent des perturbations du comportement, du développement et de l'équilibre hormonal (Koureas *et al.*, 2012; Wolansky et Harrill, 2008). Chez les mammifères exposés aux pyréthrinoïdes, les comportements moteurs, sexuels, d'apprentissage, d'anxiété et de peur peuvent être modifiés. Les seuils de modification de l'activité motrice ont été trouvés bien en dessous des doses produisant des signes d'intoxication (Wolansky et Harrill, 2008). Certains pyréthrinoïdes modifient plusieurs types de comportement, tels que la force de préhension ou produisent une incoordination.

Chez les humains, les symptômes à la suite d'une exposition chronique sont des nausées, des vertiges, des douleurs respiratoires, perte de poids et de cheveux, éruptions cutanées, perte de réponse musculaire, de mémoire et de réponse immunitaire (Kolaczinski et Curtis, 2004). Seules quelques études cliniques, expérimentales et épidémiologiques ont été menées sur les maladies induites par les pyréthriinoïdes, mais les symptômes non spécifiques peuvent être dû à d'autres causes (Kolaczinski et Curtis, 2004). De plus, des associations entre l'exposition aux pyréthriinoïdes et des problèmes comportementaux ou de développement chez les enfants ont été rapportées par des études épidémiologiques (Fiedler *et al.*, 2015; Oulhote et Bouchard, 2013; Quiros-Alcala *et al.*, 2014; van Wendel de Joode *et al.*, 2016; Wagner-Schuman *et al.*, 2015).

1.1.5.4. *Perturbation endocrinienne*

Des effets sur la reproduction ont été observés chez les rongeurs mâles suite à des expositions chroniques aux pyréthriinoïdes. Les principaux effets sont une décroissance de la production de spermatozoïdes, une diminution de la concentration en hormone lutéinisante et en testostérone dans le sérum et une modification histologique des testicules (Elbetieha *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2008, 2007). Une diminution de la fertilité chez les mâles exposés à la cyperméthrine a été observée suite à une expérience d'accouplement (Elbetieha *et al.*, 2001). De plus, des différences de toxicité entre la *cis*-perméthrine et la *trans*-perméthrine ont été mis en évidence avec des modifications hormonales qui apparaissent uniquement suite à l'exposition à l'isomère *cis* (Jin *et al.* 2012 ; Zhang *et al.* 2008).

Des études *in vitro* montrent que les pyréthriinoïdes peuvent altérer les hormones féminines et masculines (activité ostrogénique et antiandrogénique) (Chen *et al.*, 2005; Go *et al.*, 1999).

Chez l'humain, des signes similaires ont été démontrés : modification de la qualité et la quantité de spermes, modification des taux en hormone lutéinisante modification de l'ADN des spermatozoïdes (Han *et al.*, 2008; Meeker et Barr, 2009, 2008).

1.1.5.5. *Autres effets*

L'exposition aux pyréthriinoïdes a été associée à des dommages causés à l'ADN dans des études épidémiologiques transversales chez l'humain (Meeker et Barr, 2009, 2008). Ces molécules ont d'ailleurs été identifiées comme pouvant entraîner des effets génotoxiques par certains auteurs (Gökalp, 2012; Tisch *et al.*, 2002; Vadhana *et al.*, 2010). Une étude *in vitro* sur cellules humaines nasales exposées à la perméthrine a été associée à une réponse génotoxique

significative qui était dépendante de la concentration (Tisch *et al.*, 2002). Une vingtaine d'études ont d'ailleurs montré le potentiel génotoxique des insecticides pyréthrinoïdes *in vitro* (Tisch *et al.*, 2002). Parmi celles-ci, celle de Gökalp (2012) a démontré que certains pyréthrinoïdes entraînaient des effets génotoxiques sur des cultures de lymphocytes, tandis que des effets précoces de cardiotoxicité ont également été observés (Vadhana *et al.*, 2010). Les résultats ont indiqué que la perméthrine induisait des dommages oxydatifs aux bases de purine dans les cellules cardiaques.

D'autres indicateurs d'effets précoces ont été rapportés. Une association significative a été constatée entre la régulation anormale du glucose et l'exposition aux pyréthrinoïdes lors d'une étude cas-témoin chez plus de 3 000 travailleurs d'entreprises fabriquant des pesticides au Japon (Wang *et al.*, 2007).

En particulier, quatre composés pyréthrinoïdes, à savoir la deltaméthrine, la perméthrine et la cyperméthrine et la cyfluthrine sont couramment utilisés comme insecticides et sont recommandés pour le contrôle des insectes à domicile. Des études montrent qu'ils ne sont pas totalement inoffensifs pour la santé humaine, car ils peuvent pénétrer dans l'organisme par contact avec la peau, par inhalation, par ingestion d'aliments ou d'eau. La perméthrine semble avoir des effets néfastes sur la fertilité, le système immunitaire, le métabolisme cardiovasculaire et hépatique, ainsi que sur l'activité enzymatique. La deltaméthrine induit une inflammation, une néphropathie et une hépatotoxicité et influe sur l'activité des enzymes antioxydantes dans les tissus. La cyperméthrine peut altérer l'immunité et augmenter le taux de glucose et de lipides dans le sang. Enfin, la cyfluthrine provoque une dégénérescence axonale des nerfs ainsi qu'une nécrose des muscles.

1.2. Estimation des expositions de la population générale aux pyréthrinoïdes

Deux approches sont communément utilisées pour estimer les expositions des populations aux substances chimiques. La première méthode, issue de l'expologie, utilise des mesures de contaminations des milieux environnementaux et les habitudes de vie (consommations alimentaires, paramètres physiologiques, *etc.*) afin d'estimer une dose de substance mise au contact des individus (appelée aussi dose externe). La deuxième méthode caractérise l'imprégnation des populations par des mesures biologiques dans les fluides (sang, urine) ou autres matrices (par exemple, cheveux). Les méthodologies employées dans ces deux approches ainsi que les travaux réalisés spécifiquement pour les pyréthrinoïdes seront présentées dans cette partie.

1.2.1. A partir des contaminations des milieux environnementaux

L'évaluation de l'exposition à une substance chimique a été définie par la Commission Européenne comme étant « la détermination des voies d'émission et des vitesses de déplacement d'une substance, ainsi que de sa transformation ou de sa dégradation, afin d'estimer les concentrations/doses auxquelles les populations humaines ou les milieux environnementaux (eau, sol, air) sont ou peuvent être exposés » (Commission Européenne, 1994). L'estimation des expositions s'appuie donc sur une succession d'étapes dont l'objectif final est de décrire et de quantifier, aussi précisément que possible, les expositions à une substance propre à un milieu donné, pour une voie d'exposition donnée et pour un groupe d'individus donné. Doivent donc être déterminées (US EPA, 1984) :

- La contamination du milieu, à savoir la nature et la quantité de substances présentes dans le milieu environnemental ;
- La population concernée par cette contamination, avec l'identification des voies possibles d'exposition en fonction des habitudes de vie (comme la consommation d'aliments) ;

- L'exposition à proprement parler, qui est définie comme le produit du niveau de contamination du milieu par la durée de contact de la population avec cette contamination.

Les sources de contamination des milieux environnementaux sont multiples. Les substances chimiques utilisées dans les traitements des matériaux, comme les canapés par exemple, diffusent progressivement les substances qui sont principalement des semi-volatiles. Une exposition aiguë peut aussi avoir lieu après pulvérisation dans l'air par des bombes aérosols ou des bombes fumigènes. Les sources de contamination de l'air extérieur sont multiples et les processus peuvent être complexes. En France, les principales sources d'émission de polluants atmosphériques sont l'industrie, le transport routier, l'agriculture et le chauffage au bois. Les contaminants sont multiples : dioxyde de soufre et d'azote, ozone, particules fines, monoxyde de carbone, pesticides, métaux lourds (arsenic, nickel, plomb, cadmium), hydrocarbures aromatiques polycycliques, etc. Enfin, l'alimentation et l'eau peuvent être aussi contaminées par les pesticides mais aussi des agents pathogènes biologiques (bactéries, virus, parasites, prions), des résidus de médicaments, le transfert de contaminant des emballages aux aliments (boîtes de conserves, couvercle, papiers) ... De plus, une substance chimique peut être mise au contact des individus par trois voies d'exposition : i) l'inhalation pouvant résulter de la contamination de l'air extérieur ou intérieur, de la poussière domestique, ii) l'ingestion principalement due à la contamination des aliments et de l'eau potable, et iii) le contact avec la peau de l'air extérieur ou intérieur contaminé, de la poussière domestique ou un contact direct après application de crème ou de spray (Figure 6).

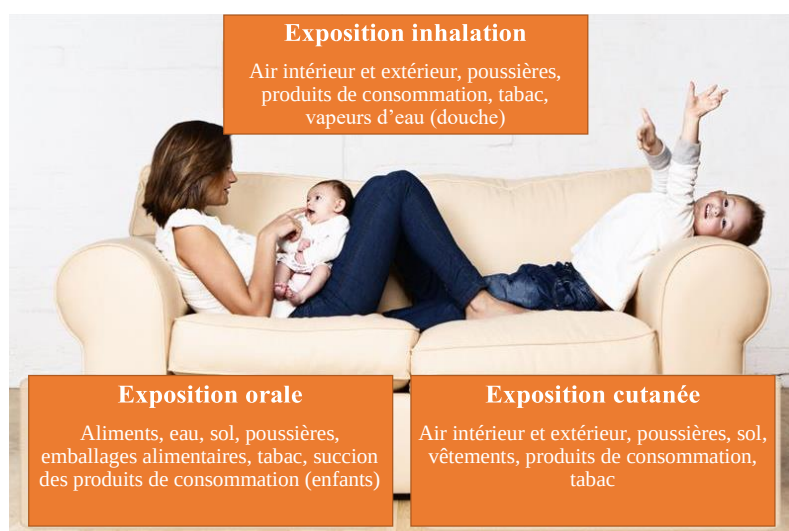


Figure 6: Voies et sources d'exposition aux substances chimiques (d'après ToxTutor).

Dans ce contexte, nous présentons la méthodologie générale et la mise en équation pour estimer l'exposition à partir des contaminations des poussières, de l'air intérieur et extérieur et de l'alimentation. Dans un deuxième temps, son application à la famille des pyréthriinoïdes au travers d'études publiées sera étudiée.

Afin d'estimer l'exposition de la population aux contaminants de l'environnement, des équations plus ou moins complexes sont disponibles dans la littérature pour les trois voies d'exposition.

Ingestion

Selon l'OMS, l'alimentation est la source principale d'exposition de la population générale aux pesticides (OMS, 1990). La dose journalière par ingestion d'aliments contaminés (DJE_{alim} en mg/kg poids corporel /jour) traduit l'exposition alimentaire des consommateurs. Elle est calculée pour chaque substance j et pour chaque individu i selon la formule :

$$DJE_{alim\ i,j} = \frac{\sum_{k=1}^n Q_{i,k} \times C_{k,j}}{PC_i}$$

où n est le nombre d'aliments consommés par l'individu i , $Q_{i,k}$ la consommation de l'aliment k par l'individu i (kg/jour), $C_{k,j}$ la concentration de la substance j dans l'aliment k (mg/kg) et PC_i le poids corporel de l'individu i (kg).

D'autre part, d'autres sources d'exposition orale peuvent s'ajouter à l'alimentation. Par exemple, l'ingestion par les enfants de poussières et de sol contaminés *via* le contact main-bouche.

Inhalation

La dose d'exposition journalière par inhalation (DJE_{inh} ; mg/ kg poids corporel/jour) correspond à la quantité de substance mise quotidiennement au contact d'un organisme au niveau de son épithélium respiratoire sans l'avoir traversé (US EPA, 2004b). La DJE_{inh} prend à la fois en compte les concentrations de substances dans l'air intérieur et extérieur, le temps passé par la population à l'intérieur et extérieur et le volume respiratoire des individus pour estimer l'exposition par inhalation globale. Elle est estimée à l'aide de l'équation (US EPA, 2004b) :

$$DJE_{inh} = \frac{(C_i \times V_r \times T_i) + (C_e \times V_r \times T_e)}{PC}$$

où C_i et C_e (mg/m³) sont les concentrations intérieures et extérieures respectivement, T_i et T_e les fractions de temps passées à l'intérieur et à l'extérieur respectivement (h/j) et V_r le volume respiratoire (m³/h).

Contact cutané

Enfin, la dose journalière d'exposition par voie cutanée (DJE_{cut} ; mg/kg poids corporel/jour) correspond à la quantité de substance mise quotidiennement en contact d'un organisme au niveau de son derme sans l'avoir traversé (US EPA, 2004c). L'exposition est possible par contact avec des particules en suspension et de la poussière sédimentée. Le contact cutané avec les particules en suspension dans l'air (DJE_{cut_ap} ; mg/kg poids corporel/jour) comme pour l'exposition par inhalation, le contact cutané avec les particules en suspension dans l'air prend en compte l'exposition par l'air intérieur et extérieur mais aussi la vitesse de déposition des particules sur la peau, la fraction et la surface du corps exposé. Elle peut être calculée comme suit (US EPA, 2004c) :

$$DJE_{cut_ap} = \frac{(vp \times C_i \times S \times Frac_{exp} \times T_i) + (vp \times C_e \times S \times Frac_{exp} \times T_e)}{PC}$$

où vp est la vitesse de déposition des particules en suspension sur la surface de la peau (m/h), $Frac_{exp}$ la fraction du corps exposé (-), et S la surface corporelle (m²).

L'exposition par contact cutané avec la poussière (DJE_{cut_p} ; mg/kg poids corporel/jour) est calculée à partir des concentrations dans les poussières, de la fraction et la surface du corps exposé, de la durée d'exposition dans la journée et de la quantité de poussière qui adhère à la peau. Elle peut être modélisée comment suit (US EPA, 2004c) :

$$DJE_{cut_p} = \frac{C_p \times Frac_{exp} \times S \times M_p \times t}{PC}$$

où C_p (mg/g) est la concentration en poussière, M_p est la quantité de poussière collée à la peau (g/m²) et t l'exposition journalière (h/j).

La dose totale absorbée par voie cutanée (DJE_{cut} ; mg/kg poids corporel/jour) est obtenue en additionnant ces deux voies d'exposition (US EPA, 2004c) :

$$DJE_{cut} = DJE_{cut_ap} + DJE_{cut_p}$$

Données pour paramétrer les équations pour estimer l'exposition

Afin de paramétrer les équations pour estimer l'exposition il est donc nécessaire de disposer :

i) de données de contamination pour chaque média d'intérêt (aliments, air extérieur et intérieur, poussières, *etc.*), ii) de données de paramètres humains (taille, poids, volume respiratoire, consommation alimentaire, fraction du corps exposé, quantité de poussières intégrées, *etc.*) et iii) du budget espace-temps (temps passé à l'intérieur et à l'extérieur). Lorsque ces valeurs de paramètres ne sont pas disponibles pour la population étudiée, des bases de données existent afin d'utiliser des valeurs moyennes populationnelles comme par exemple *l'Exposure Factor Handbook* de l'US EPA (US EPA, 2011). Des informations comme le temps moyen passé à l'intérieur et à l'extérieur peuvent par exemple être tirées de cette base de données.

Il peut arriver que certaines mesures dans les milieux ou aliments, la poussière ou l'air ne soient pas détectées. Ces mesures non-détectées ne signifient pas nécessairement que le contaminant n'est pas présent, mais simplement que la concentration présente est inférieure au niveau pouvant être détecté (LOD) ou quantifié (LOQ) de manière fiable par la méthode analytique utilisée. Différentes méthodologies permettent de considérer ces données censurées. Des méthodes relativement simples considèrent les données non quantifiées comme égales à zéro ou à la moitié de la limite de quantification des mesures analytiques, ou encore comme égales à cette même limite (EFSA, 2012; US EPA, 2000). Un autre scénario intermédiaire considère le pourcentage de contaminants quantifiés pour remplacer le même pourcentage de contaminants non-détectés par $(\text{LOD} + \text{LOQ}) / 2$, alors que le pourcentage de non quantifiés restent à zéro (EFSA, 2012; US EPA, 2000). En fonction de la méthodologie utilisée, il y a potentiellement un risque de sous-estimer le risque en considérant une contamination nulle. Le choix de la méthode analytique et du traitement des données censurées constitue donc un élément critique pour l'évaluation des risques.

1.2.1.1. Application aux pyréthrinoïdes

Les méthodologies présentées ci-dessus ont été mises en œuvre dans plusieurs études avec différentes populations et voies d'exposition afin d'estimer l'exposition aux pyréthrinoïdes.

1.2.1.1.1. Contamination des milieux

Plusieurs études à travers le monde ont mesuré la contamination en pyréthrinoïdes dans les aliments. En France, l'Étude de l'alimentation totale 2 (EAT 2) réalisée par l'ANSES en 2006 vise à rechercher différentes substances présentes dans les aliments (ANSES, 2011). D'autre part, la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes du Ministère de l'Économie en 2006 (DGCCRF, 2008) et la Direction générale de l'alimentation du Ministère de l'Agriculture en 2005-2006 ont réalisé des analyses dans les aliments et l'eau courante dans le cadre de contrôles ciblés sur des non-conformités constatées précédemment ou lors de contrôles renforcés à l'importation. Ces dernières ne sont certainement pas représentatives pour la population française mais peuvent être interprétées comme une estimation haute de la contamination alimentaire. Les résultats des analyses de la DGCCRF montrent que les pyréthrinoïdes les plus fréquemment détectés sont la cyperméthrine (58 %), la deltaméthrine (39 %) et la perméthrine (3 %). Les fruits (raisins, oranges, poires, pêches, fraises, pommes), les céréales, les légumes et les aliments d'origine animale représentent les principaux aliments où les pyréthrinoïdes sont retrouvés. Concernant EAT 2, parmi les 14 composés pyréthrinoïdes recherchés dans 194 types d'aliments, seules deux ont été quantifiés : la bifenthrine et la lambda-cyhalothrine (> 2 % des échantillons analysés) dans les aliments tels que les pêches, les poires, les pommes, les raisins blancs et les salades. L'eau potable ne semble pas représenter une source d'exposition aux pyréthrinoïdes pour la population française. En effet, aucune trace de contamination n'a été détectée lors de l'étude EAT 2 (ANSES, 2011) et seule la deltaméthrine a été très faiblement quantifiée lors des contrôles réalisés par la DGCCRF (dans 0,01 % des échantillons) (DGCCRF, 2008).

Aux États-Unis, des études semblables ont été menées. Les composés les plus souvent détectés sont la perméthrine, la deltaméthrine, la cyperméthrine, la cyfluthrine et la bifenthrine (Melnik *et al.*, 2014; Morgan *et al.*, 2018). Comme pour les études réalisées en France, les composés sont faiblement détectés : perméthrine (33 %), bifenthrine (30 %), cyperméthrine (11 %), cyfluthrine (4 %) et deltaméthrine (1 %) (Morgan *et al.*, 2018). A Hong-Kong (Wong *et al.*, 2014) et en Espagne (Quijano *et al.*, 2016) les analyses montrent que les substances les plus souvent détectées sont la cyperméthrine, la cyhalothrine et la perméthrine. Les aliments les plus

contaminés sont les fruits (poire, raisin et pomme), les légumes (épinards et salades), les céréales et le poisson. Néanmoins les niveaux de détection restent faibles pour la plupart des pyréthriinoïdes.

Les pyréthriinoïdes peuvent aussi être retrouvés dans la poussière et l'air intérieur. En France, les travaux de Blanchard *et al.* (2014) et Mandin *et al.* (2016) ont montré que la perméthrine et la cyperméthrine étaient retrouvées en quantités relativement importantes dans la poussière (respectivement 0,55 µg/g et à 0,18 µg/g). Les niveaux dans les poussières observés peuvent varier en fonction des études et des pays. Par exemple, les niveaux observés de perméthrine en France (Blanchard *et al.*, 2014; Mandin *et al.*, 2016) sont 100 fois inférieurs à ceux observés en Chine (Li *et al.*, 2014). Aux Etats-Unis (Wason *et al.*, 2013), les pyréthriinoïdes les plus souvent retrouvés sont la perméthrine (100 %) suivis par la cyperméthrine (90 %) et enfin la cyfluthrine (71 %). Les niveaux français sont similaires à ceux retrouvés en Californie pour la cyperméthrine (Bradman *et al.*, 2015; Hwang *et al.*, 2008). Pour la perméthrine, les niveaux français sont supérieurs à ceux retrouvés en Californie (Bradman *et al.*, 2015; Hwang *et al.*, 2008) mais inférieurs à ceux d'études allemandes (Leng *et al.*, 2005), et américaines (Julien *et al.*, 2008; Morgan *et al.*, 2007).

Les pyréthriinoïdes sont également présents dans l'air extérieur après le traitement des cultures (Zhang *et al.*, 1991) mais se dégradent rapidement dans l'atmosphère (par photolyse ou réaction d'oxydation). Le Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air français a effectué une synthèse des prélèvements de substances actives dans l'air ambiant réalisés par 12 Associations Agréées de Surveillance de la Qualité de l'Air entre 2001 et 2007 (LCSQA, 2009). Les résultats montrent que parmi les 8 pyréthriinoïdes recherchés (bifenthrine, cyfluthrine, cyperméthrine, deltaméthrine, esfenvalérate, lambda-cyhalothrine, perméthrine et transfluthrine), seule la cyperméthrine, la deltaméthrine et la lambda-cyhalothrine étaient détectées à des fréquences faibles (< 1 %) à des niveaux maximums retrouvés autour de 0,1 ng/m³ d'air. Cela peut s'expliquer par leur faible volatilité. D'autres pays sont plus exposés aux pyréthriinoïdes via l'air extérieur. Par exemple, au Brésil (Nascimento *et al.*, 2017) la perméthrine a été mesurée dans l'air extérieur avec des niveaux de détection de 95 % et une concentration moyenne de 0,3 ng/m³ et maximum à 1 ng/m³.

Les différences de contamination des aliments, de l'air intérieur, extérieur et dans les poussières entre les pays peuvent s'expliquer par les différentes pratiques d'agriculture ou encore les différentes réglementations. Les méthodes analytiques utilisées pour les mesures vont aussi

influer sur les niveaux de contaminant, selon leur LOD et LOQ. A titre d'exemple, la LOD dans l'étude d'Air PACA (2012) était 7 fois supérieure à celle utilisée dans l'étude de Nascimento *et al.* (2017) avec des pourcentages de détection de la perméthrine de 9,5 % pour l'étude d'Air PACA (2012) et 95 % pour l'étude de Nascimento *et al.* (2017). Pour les aliments, la LOD de l'étude française EAT 2 pour la perméthrine se situe entre 10 et 100 ng/g en fonction des aliments alors qu'elle est de 0,1 ng/g dans l'étude américaine de Morgan *et al.* (2018).

1.2.1.1.2. Expositions estimées

Plusieurs études ont été menées afin d'évaluer l'exposition des populations aux pyréthrinoïdes en utilisant des modèles plus ou moins complexes permettant d'estimer les doses journalières d'exposition (DJE) par différentes voies d'exposition et en étudiant différentes populations (Tableau 1). Les pyréthrinoïdes les plus étudiés sont la perméthrine, l'alléthrine, la cyfluthrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine, la resméthrine, l'esfenvalerate et la lambda-cyhalothrine. Concernant l'alimentation chez les adultes, les résultats des expositions semblent se situer dans les mêmes niveaux à Hong Kong (maximum pour la cyperméthrine à 0,078 µg/ kg poids corporel/jour), en Espagne (maximum pour la cyfluthrine à 0,024 µg/kg poids corporel/jour) et aux États-Unis (maximum pour la perméthrine à 0,018 µg/kg poids corporel/jour). Darney *et al.* (2018) ont modélisé 3 scénarios d'exposition pour la perméthrine (bas, haut et moyen) en France. La différence entre ces scénarios réside dans le traitement des données censurées. Alors que l'estimation résultante du scénario bas est bien inférieure aux estimations des autres pays, les scénarios moyen et haut sont supérieurs aux autres pays. D'autres études ont cherché à comparer les expositions entre les différents pesticides utilisés. Selon Melnyk *et al.* (2014) et Wong *et al.* (2014), l'exposition aux pyréthrinoïdes aux États-Unis était supérieure à celle due aux carbamates et composés organophosphorés. À l'inverse, Quijano *et al.* (2016) ont montré que la population espagnole était plus exposée aux carbamates et aux composés organophosphorés qu'aux pyréthrinoïdes. Dans un contexte de caractérisation du risque, Wong *et al.* (2014), Li *et al.* (2016) et Quijano *et al.* (2016) ont comparé les expositions prédites aux doses toxicologiques de référence et ont montré que les risques cumulés chroniques semblaient être relativement faibles dans leurs pays respectifs. D'autre part, Morgan *et al.* (2018) et Melnyk *et al.* (2014) ont aussi montré que la population américaine est plus exposée aux pyréthrinoïdes durant le dîner et le déjeuner.

Des estimations d'exposition de la population adulte *via* l'inhalation ont été réalisées au Brésil (Nascimento *et al.*, 2017) et en France (Hermant *et al.*, 2018). L'exposition *via* l'air est 9 fois

supérieure au Brésil comparativement à la France. Zartarian *et al.* (2012) ont montré que l'exposition par l'inhalation de bombes aérosols, de bombes fumigènes ou de poussière des enfants de 3 à 5 ans aux États-Unis est de 140 à plus de 1 000 fois supérieure à celle des adultes français et brésiliens.

De plus, les expositions *via* le contact cutané ont été estimées chez les adultes en France par contact avec l'air et les poussières (Darney *et al.*, 2018; Hermant *et al.*, 2018) et chez les enfants aux États-Unis (Zartarian *et al.*, 2012). Les enfants américains sont 1,5 fois plus exposés que les adultes français.

Enfin, Xue *et al.* (2014) ont quantifié l'exposition cumulée de la population américaine à 7 pyréthrinoïdes par l'alimentation, le contact cutané et l'inhalation. Ces travaux permettent de montrer que les enfants sont plus exposés par l'alimentation puis par l'ingestion non alimentaire et enfin le contact cutané. En outre, l'exposition cumulée montre que les américains sont plus exposés à la perméthrine, la cyperméthrine et la cyfluthrine. En France, après la voie alimentaire, la poussière semble être la principale source d'exposition comparativement à l'inhalation (Darney *et al.*, 2018; Hermant *et al.*, 2018). Cela peut s'expliquer par la composition physico-chimique des pyréthrinoïdes. En effet, ces composés sont faiblement volatiles et ont tendance à se déposer rapidement et à s'accumuler sur les surfaces où la poussière se dépose. Les pyréthrinoïdes ont également une durée de vie courte dans l'air en raison de leur photosensibilité élevée (Berger-preieß *et al.*, 1997; Leng *et al.*, 2005).

.

Tableau 1 : Études d'évaluation de l'exposition aux pyréthrinoïdes chez l'enfant et l'adulte.

Reference	Pays	Population	Composés	Voie d'exposition	Dose d'exposition
Wong et al. (2014)	Hong-Kong	Adultes	Cyfluthrine	Alimentaire	0,002 µg/kg pc/ j
			Cyperméthrine	Alimentaire	0,058 µg/kg pc/ j
			Deltaméthrine	Alimentaire	0,001 µg/kg pc/ j
			Perméthrine	Alimentaire	0,035 µg/kg pc/ j
Wason et al. (2013)	États-Unis	Enfants	Perméthrine	Non-alimentaire orale et cutanée	0,0085 µg/kg pc/ j
			Cyperméthrine	Non-alimentaire orale et cutanée	0,0041 µg/kg pc/ j
			Cyfluthrine	Non-alimentaire orale et cutanée	0,0024 µg/kg pc/ j
Zartarian et al. (2012)	États-Unis	Enfants (3- 5 ans)	Perméthrine	Alimentaire	0,12 µg/kg pc/ j
				Non-alimentaire orale	0,10 µg/kg pc/ j
				Inhalation	0,013 µg/kg pc/ j
				Cutanée	0,009 µg/kg pc/ j
Quijano et al. (2016)	Espagne (Valence)	Adultes	Cyfluthrine	Alimentaire	0,024 µg/kg pc/ j
			Cyperméthrine	Alimentaire	0,004 µg/kg pc/ j
			Deltaméthrine	Alimentaire	0,021 µg/kg pc/ j
		Enfants	Cyfluthrine	Alimentaire	0,033 µg/kg pc/ j
			Cyperméthrine	Alimentaire	0,005 µg/kg pc/ j
			Deltaméthrine	Alimentaire	0,028 µg/kg pc/ j
Darney et al. (2018)	France	Adultes	Perméthrine	Inhalation	1,63x10 ⁻⁵ µg/kg pc/ j
				Cutanée (poussières)	6,83x10 ⁻³ µg/kg pc/ j
				Cutanée (air)	7,98x10 ⁻⁵ µg/kg pc/ j
				Non-alimentaire orale	1,31x10 ⁻³ µg/kg pc/ j
				Alimentaire (scénario bas)	8,63x10 ⁻³ µg/kg pc/ j
				Alimentaire (scénario haut)	0,83 µg/kg pc/ j
				Alimentaire (scénario moyen)	0,42 µg/kg pc/ j

Reference	Pays	Population	Composés	Voie d'exposition	Dose d'exposition
Hermant <i>et al.</i> (2018)	France	Adultes	Perméthrine	Inhalation	1x10 ⁻⁵ µg/kg pc/ j
				Cutanée (poussières)	5,80x10 ⁻³ µg/kg pc/ j
				Cutanée (air)	7x10 ⁻⁵ µg/kg pc/ j
				Non-alimentaire orale	1,1x10 ⁻³ µg/kg pc/ j
Quiros-Alcala <i>et al.</i> (2014)	États-Unis (CA)	Enfants	Cis-Perméthrine	Non-alimentaire orale	0,13 µg/kg pc/ j
			Trans-Perméthrine	Non-alimentaire orale	0,22 µg/kg pc/ j
			Cyperméthrine	Non-alimentaire orale	0,064 µg/kg pc/ j
			Deltaméthrine	Non-alimentaire orale	0,09 µg/kg pc/ j
Nascimento <i>et al.</i> (2017)	Brésil	Adultes	Perméthrine	Inhalation	9x10 ⁻⁵ µg/kg pc/ j
		Enfants (1-6 ans)	Perméthrine	Inhalation	0,00021 µg/kg pc/ j
		Adolescents (>6 - 15 ans)	Perméthrine	Inhalation	0,00025 µg/kg pc/ j
Melnyk <i>et al.</i> (2014)	États-Unis (FL)	Adultes	Perméthrine	Alimentaire	0,018 µg/kg pc/ j
			Cyfluthrine	Alimentaire	0,0035 µg/kg pc/ j
			Cyperméthrine	Alimentaire	0,0095 µg/kg pc/ j
Xue <i>et al.</i> (2014)	États-Unis	Adultes	Pyréthriinoïdes qui se métabolisent en 3-PBA et DCCA (Perméthrine, Alléthrine, Cyfluthrine, Cyperméthrine, Deltaméthrine, Resméthrine, Esfenvalérate)	Usage résidentiel (inhalation, cutanée, alimentaire et non-alimentaire orale)	0,06 µg/kg pc/ j
				Population générale (inhalation, cutanée, alimentaire et non-alimentaire orale)	0,047 µg/kg pc/ j
		Enfants (3- 5 ans)	Pyréthriinoïdes qui se métabolisent en 3-PBA et DCCA (Perméthrine, Alléthrine, Cyfluthrine, Cyperméthrine, Deltaméthrine, Resméthrine, Esfenvalérate)	Usage résidentiel (inhalation, cutanée, alimentaire et non-alimentaire orale)	0,14 µg/kg pc/ j
				Population générale (inhalation, cutanée, alimentaire et non-alimentaire orale)	0,064 µg/kg pc/ j

CA = Californie ; FL = Floride.

1.2.2. A partir des imprégnations des populations

La seconde approche présentée ici pour évaluer l'exposition aux substances chimiques est réalisée par la mesure directe de biomarqueurs d'exposition dans les populations lors d'études de biosurveillance. La biosurveillance humaine est « l'évaluation de l'exposition humaine à une substance chimique de l'environnement à travers la mesure de cette substance, de son (ses) métabolite(s), ou produit(s) de réactions biochimiques, dans le sang, l'urine, le lait, la salive, le tissu adipeux, ou d'autres tissus, chez plusieurs individus pris séparément, mais en général considérés ensemble de façon à constituer une population » (Needham *et al.*, 2007).

Dans la suite, nous présentons la définition des biomarqueurs d'exposition et leurs utilisations, les biomarqueurs d'exposition aux pyréthrinoïdes et les imprégnations humaines.

1.2.2.1. Les biomarqueurs d'exposition

Un biomarqueur d'exposition est une substance exogène, son métabolite primaire ou la réponse à une interaction entre un agent xénobiotique et une molécule ou cellule cible mesurée dans une matrice de l'organisme (Choi *et al.*, 2015). Il reflète l'exposition interne et donc les doses réellement absorbées par les différentes voies d'exposition (Vermeulen *et al.*, 2002). Ils permettent de mettre en évidence une exposition passée ou récente en fonction du temps de résidence (demi-vie) de la substance dans l'organisme.

Les matrices dans lesquelles sont mesurés les biomarqueurs dépendent souvent de leur persistance dans l'organisme. Les composés persistants sont couramment mesurés dans le sang (Calafat, 2016). Du fait de leur temps de résidence assez long dans les organismes (ils sont peu métabolisés et excrétés lentement), ces composés ont tendance à s'y accumuler. Leurs demi-vies peuvent atteindre plusieurs années. Les biomarqueurs mesurés sont donc généralement représentatifs d'une exposition longue puisque leur demi-vie tend à lisser les variations de l'exposition.

Les composés peu persistants ont par définition des demi-vies de l'ordre de quelques heures ou jours. Du fait de leur dégradation rapide, ce sont le plus souvent leurs métabolites qui sont mesurés dans les urines. Les mesures de substances non persistantes sont le plus souvent très largement influencées par les expositions les plus récentes (Calafat, 2016).

La Figure 7 présente les relations entre ces mesures d'exposition interne et la toxicocinétique des substances. La concentration sanguine présente l'avantage de fournir le niveau de substance

circulant dans le corps et au contact des organes, tandis que les autres matrices représentent les niveaux de substance excrétés ou stockés.

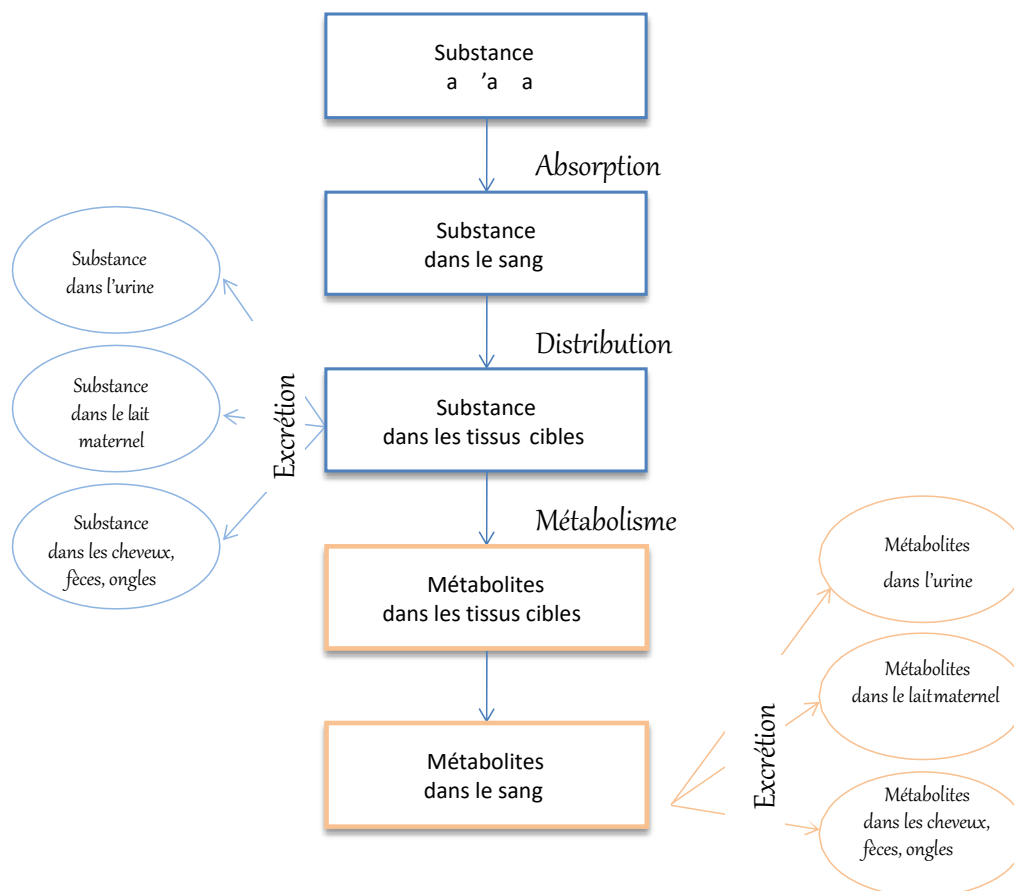


Figure 7: Représentation schématique des liens entre la dose d'exposition et les concentrations dans les différents milieux biologiques comme le sang, les urines, les fèces, le lait, les cheveux, les ongles.

Adapté de Hays et al. (2007).

1.2.2.2. Biosurveillance humaine des pyréthrinoïdes

Compte tenu du profil cinétique des pyréthrinoïdes, la surveillance des populations est généralement effectuée par la mesure de la concentration des métabolites urinaires. Les composés parents étant rapidement dégradés dans l'organisme, leurs métabolites urinaires sont généralement plus stables (Berton *et al.*, 2014; Corrion *et al.*, 2005). Cinq métabolites sont typiquement recherchés lors des études de biosurveillance : l'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA), les acides *cis*- et *trans*-3-(2,2-dichlorovinyl) -2,2-diméthyl cyclopropane carboxylique (*cis*-DCCA et *trans*-DCCA), l'acide 4-fluoro-3-phénoxybenzoïque (F-PBA), l'acide 3-(2,2-dibromovinyl) -2,2-diméthyl cyclopropane carboxylique (DBCA). Ces métabolites pouvant être communs à plusieurs pyréthrinoïdes, les résultats des études de biosurveillance sont le

reflet d'une exposition globale aux pyréthrinoïdes et non à un pyréthrinoïde spécifique (Ueyama *et al.*, 2010). Les composés précurseurs du 3-PBA sont principalement la deltaméthrine, la cyperméthrine, l'esfenvalérate, la perméthrine, la phénothrine, la cyhalothrine fenproprathine, et ceux de la *cis*- et *trans*-DCCA la cyperméthrine, la perméthrine et la cyfluthrine. En revanche, le F-PBA et le DBCA sont spécifiques de la cyfluthrine et de la deltaméthrine respectivement (Figure 8). Le Tableau 2 présente les composés parents avec leurs métabolites urinaires respectifs qui sont habituellement mesurés dans des études de biosurveillance.

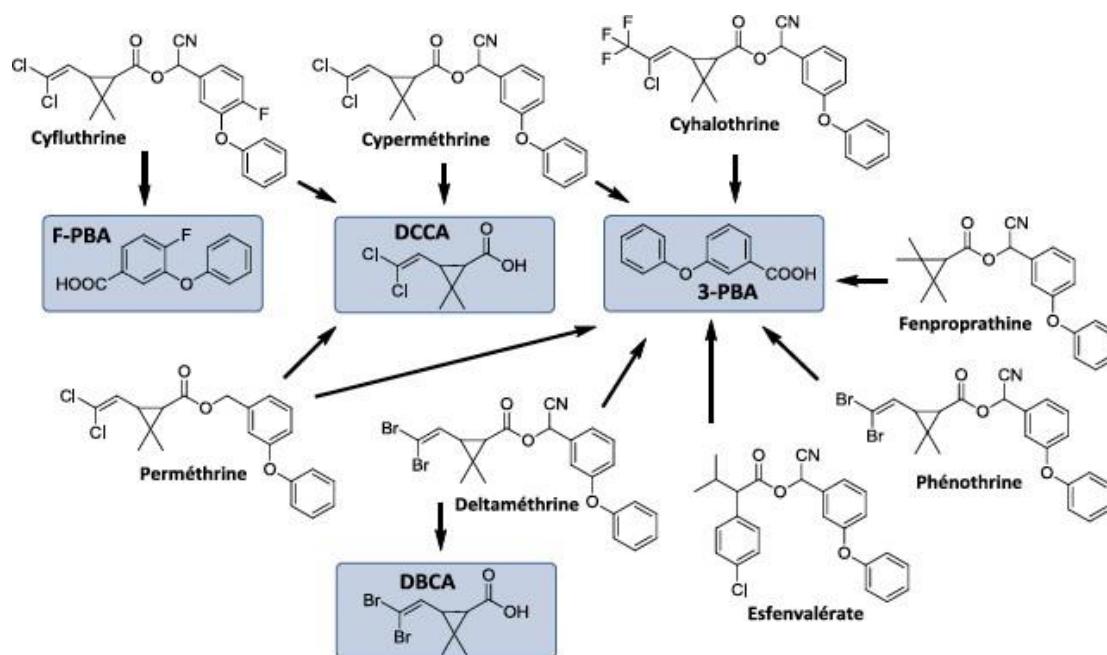


Figure 8: Les pyréthrinoïdes et leurs métabolites 3-PBA, F-PBA, DCCA et DBCA. Adapté de Ueyama *et al.* (2010).

Tableau 2 : Principaux pyréthrinoïdes utilisés couramment et leurs métabolites correspondants.

Composés parents	Métabolites				
	3-PBA	<i>cis</i> -DCCA	<i>trans</i> -DCCA	DBCA	F-PBA
Cyfluthrine		X	X		X
Cyhalothrine	X				
Cyperméthrine	X	X	X		
Deltaméthrine	X			X	
Esfenvalérate	X				
Perméthrine	X	X	X		
Phénothrine	X				

1.2.2.3. Exposition de la population générale

Différents programmes nationaux de biosurveillance ont été mis en place pour pour décrire l'exposition des populations aux substances chimiques. C'est le cas notamment des études NHANES (National Health and Nutrition Examination Surveys) aux Etats-Unis depuis 1976 ou en Allemagne avec les études GerES. En France, une étude menée en 2006 par l'Institut de Veille Sanitaire (Fréry *et al.*, 2011) dans le cadre de l'étude nationale nutrition santé (ENNS) a permis de démontrer la présence des biomarqueurs d'exposition aux pyréthriinoïdes dans les urines d'un échantillon de la population française âgée de 18 à 74 ans et non exposée professionnellement. Les cinq métabolites recherchés ont été quantifiés entre 30 à 98 % des échantillons analysés. Commune à plusieurs pyréthriinoïdes, la concentration en 3-PBA est deux fois plus élevée que celles de *trans*-DCCA et de DBCA. La concentration de *cis*-DCCA est, quant à elle, inférieure à celles des 3 métabolites. La médiane des concentrations en F-PBA était en dessous de la limite de quantification (0,1 µg/L).

La mise en perspective de ces résultats avec ceux obtenus dans d'autres pays permet de comparer le niveau d'exposition de la population française (Tableau 3) avec les populations allemande (Egerer *et al.*, 2004), américaine (Barr *et al.*, 2010) et canadienne (Santé Canada, 2010). La population française semble plus exposée aux pyréthriinoïdes et plus particulièrement à la perméthrine, à la cyperméthrine et à la deltaméthrine. Par ailleurs, toutes populations confondues, les concentrations de 3-PBA sont toujours les plus élevées suivies respectivement de celles en *trans*-DCCA de *cis*-DCCA de DBCA et enfin de F-PBA. Au regard des concentrations en DBCA, la population française semble plus exposée à la deltaméthrine comparée aux autres populations.

Tableau 3 : Concentrations urinaires des métabolites des pyréthrinoïdes en France, en Allemagne et en Amérique du Nord.

Pays	Référence	3-PBA		cis-DCCA		trans-DCCA		DBCA	
		LOQ (LOD)	Concentrations (µg/L)	LOQ (LOD)	Concentrations (µg/L)	LOQ (LOD)	Concentrations (µg/L)	LOQ (LOD)	Concentrations (µg/L)
France	Fréry <i>et al.</i> (2011)								
	2006-2007	0,1	MG = 0,74	0,1	MG = 0,17	0,1	MG = 0,39	0,1	MG = 0,37
	n = 396	(0,03)	Med = 0,65	(0,03)	Med = 0,13	(0,03)	Med = 0,31	(0,03)	Med = 0,36
	18 – 74 ans		P95 = 4,36		P95 = 1,42		P95 = 3,85		P95 = 2,33
Allemagne	Egerer <i>et al.</i> (2004)								
	2003-2004	0,02	Med = 0,04	0,03	Med <LOQ	0,03	Med <LOQ	0,02	Med <LOQ
	n = 211		P95 = 0,51		P95 = 0,16		P95 = 0,37		P95 = 0,14
	19 – 75 ans								
Etats-Unis	Barr <i>et al.</i> (2010)								
	2001-2002	(0,1)	MG = 0,31	(0,1)	MG <LOD	(0,4)	MG <LOD	(0,1)	MG <LOD
	n = 1128		Med = 0,27		Med <LOD		Med <LOD		Med <LOD
	20 – 59 ans		P95 = 3,25		P95 = 0,96		P95 = 2,56		P95 <LOD
Canada	Santé Canada (2010)								
	2007-2009	(0,01)	MG = 0,25	0,007	MG = 0,08	(0,01)	MG = 0,20	(0,006)	MG <LOD
	n = 5450		Med = 0,23		Med = 0,07		Med = 0,17		Med <LOD
	6 – 70 ans		P95 = 2,96		P95 = 0,94		P95 = 2,53		P95 = 0,07

N = nombre de sujets /MG = moyenne géométrique / Med = valeur médiane / P95 = valeur 95^{ème} percentile

1.2.2.4. *Interprétation des biomarqueurs d'exposition*

Classiquement, l'évaluation des risques de substances chimiques se base sur la comparaison d'un niveau d'exposition externe (par exemple, une dose journalière d'exposition) et d'une valeur de référence, telle que les valeurs toxicologiques de référence ou une dose admissible journalière. Depuis quelques années, il y a une volonté internationale de dériver des valeurs de référence toxicologiques en lien avec l'exposition interne (souvent une valeur de biomarqueur d'exposition) afin, notamment, d'aider à l'interprétation des imprégnations mesurées lors d'études de biosurveillance. Les valeurs internes sont dérivées à partir de connaissances en matière d'exposition, de toxicité et de cinétique des substances.

Deux types de valeurs internes sont actuellement proposées : les valeurs de biosurveillance humaine (*Human BioMonitoring values* ou valeurs HBM) et les équivalents de biosurveillance (*Biomonitoring Equivalent* ou BE) (Angerer *et al.*, 2011).

Les valeurs de biosurveillance humaine HBM sont élaborées par la commission HBM de l'Agence fédérale allemande de l'environnement (Umweltbundesamt ou UBA) (Schulz *et al.*, 2007). La dérivation de ces valeurs se base sur des informations toxicologiques et épidémiologiques afin d'évaluer des associations potentielles entre exposition interne et altérations de paramètres biologiques ou de santé. Il existe deux types de valeurs : HBM-I et HBM-II. Le niveau HBM-I décrit la concentration interne d'une substance en dessous de laquelle aucun effet néfaste pour la santé n'est attendu. La valeur HBM-I doit être considérée comme une valeur de vérification ou de contrôle. Le niveau HBM-II indique une concentration au-delà de laquelle les risques pour la santé ne peuvent pas être exclus, et est considéré comme un niveau d'intervention. En Allemagne, les valeurs HBM sont utilisées pour interpréter les mesures réalisées lors d'études de biosurveillance humaine. Si les biomarqueurs d'exposition mesurés se situent à une concentration supérieure au niveau HBM-I et en dessous du niveau HBM-II, des mesures complémentaires sont demandées. Si les mesures confirment le résultat initial, une recherche des sources potentielles d'exposition doit être mise en œuvre. L'exposition aux sources principales doit être réduite ou supprimée afin d'atteindre un niveau acceptable d'exposition.

Les équivalents de biosurveillance (BE) sont des valeurs de référence internes définies comme la concentration d'une substance chimique ou d'un métabolite dans une matrice biologique (sang, urine, lait maternel...) qui résulterait d'une exposition continue à une dose externe correspondant à une valeur guide de toxicité définie ou un critère de toxicité (Hays *et al.*, 2007).

Ces derniers incluent, entre autres, les doses de référence et les concentrations de référence, les niveaux de risque minium, les doses journalières admissibles (DJA).

La Figure 9 présente le schéma conceptuel pour développer un BE à partir d'un Point de Départ (PoD) déterminé chez l'animal. Les données pharmacocinétiques spécifiques aux produits chimiques sont utilisées pour estimer les concentrations de biomarqueurs compatibles avec un PoD comme la dose sans effet toxique observable ou la benchmark dose, utilisée pour calculer une valeur de référence d'exposition (Bonvallot *et al.*, 2009). En développant des BE, les données de biosurveillance peuvent alors être reliées à des effets sur la santé à partir d'études épidémiologiques ou toxicologiques. Certains évaluateurs de risque font prévaloir le fait qu'une approche basée sur les BE peut être plus facilement comprise par le grand public que des valeurs telles que des doses de référence ou des concentrations de référence.

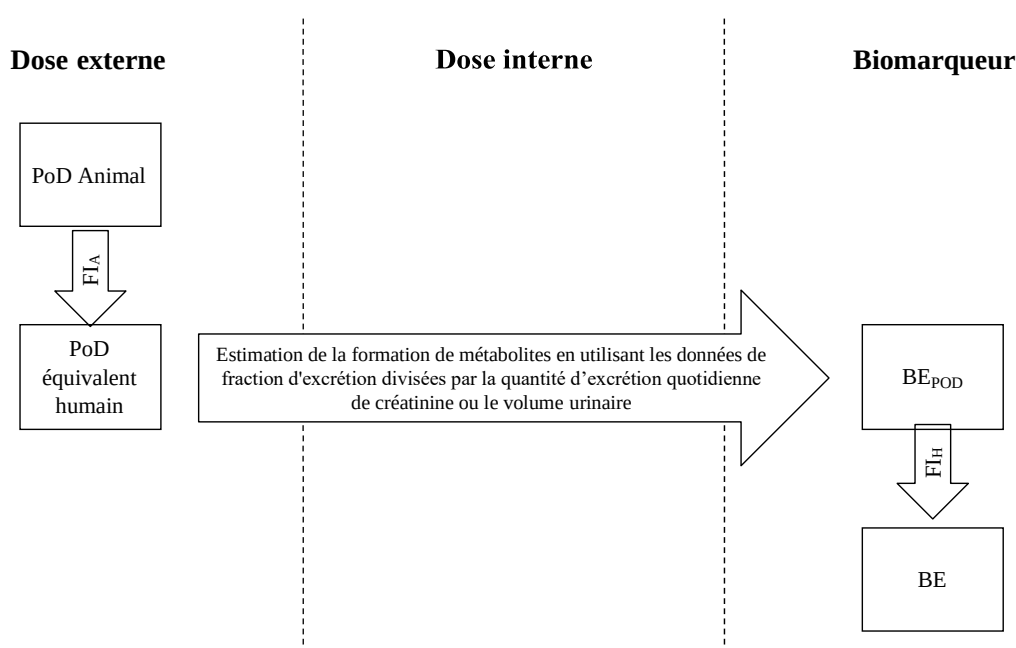


Figure 9: Schéma conceptuel du développement de valeurs de BE urinaire. FI_A : Facteurs d'incertitude inter-espèces, FI_H : Facteurs d'incertitude intra-espèces. Adapté de Hays *et al.* (2007).

La dernière étape d'une analyse de risque consiste donc à quantifier le risque. La comparaison des valeurs mesurées dans les matrices biologiques humaines avec les valeurs de BE calculées permet d'évaluer le niveau de risque. Un Quotient de Risque (QR) est calculé :

$$QR = \frac{\text{Concentration des biomarqueurs d'exposition}}{BE}$$

Une valeur de QR supérieure à 1 signifie un excès de risque. Les BEs sont destinés à être utilisés comme outils de dépistage pour permettre une évaluation des données de biosurveillance et pour évaluer quelles substances chimiques ont de grandes, petites, ou aucune marge de sécurité par rapport aux évaluations des risques existantes et aux valeurs toxicologiques de référence.

L'Institut National de Santé Publique du Québec (INSPQ, 2014) met en garde sur la possibilité d'une interprétation erronée des valeurs d'équivalents de biosurveillance. De manière générale, la détermination d'un BE repose sur un processus d'extrapolation à partir d'une dose externe chez l'animal ou l'humain en fonction de la toxicocinétique de cette substance chez l'espèce concernée. Les équivalents de biosurveillance ne sont donc pas déterminés sur la base d'une relation dose-effets néfastes où la dose est établie directement par un biomarqueur. L'Institut National de Santé Publique du Québec (INSPQ, 2014) recommande alors d'employer principalement ces valeurs dans un contexte de priorisation de substances.

Plusieurs BE ont été développés pour des composés pyréthrinoïdes pour des métabolites urinaires spécifiques (DBCA et F-PBA) et un métabolite commun à plusieurs composés parents (3-PBA). Aylward *et al.* (2011) et Hays *et al.* (2009) ont dérivé des BEs respectivement pour la deltaméthrine et la cyfluthrine avec des valeurs de référence d'agences internationales réglementaires (US EPA, OMS, Santé Canada) à partir de l'excrétion urinaire de DBCA et F-PBA. Lorsque des données sont disponibles, ce travail est relativement simple lorsque le métabolite est spécifique à un composé parent mais devient plus complexe lorsque le métabolite est commun à plusieurs composés parents. Récemment, Aylward *et al.* (2018) ont dérivé un BE pour le 3-PBA qui peut être formé à partir de 9 composés parents différents. Deux approches plus ou moins conservatrices ont été développées. La première hypothèse est la plus protectrice pour la santé. Elle suppose que le 3-PBA formé provient des composés parents ayant les valeurs de BE les plus basses (donc les plus strictes). Les valeurs de référence des composés parents variant environ d'un facteur 200 (0.25 mg/kg poids corporel/jour et 0.001 mg/kg poids corporel/jour respectivement pour la perméthrine et la cyhalothrine) cette approche est probablement extrêmement conservatrice. La deuxième approche utilise les niveaux d'exposition pour pondérer la valeur de BE. Ce BE, déterminé à partir des expositions de la population américaine, peut être comparé avec les résultats des campagnes de biosurveillance américaines et peut être interprété selon la Figure 10.

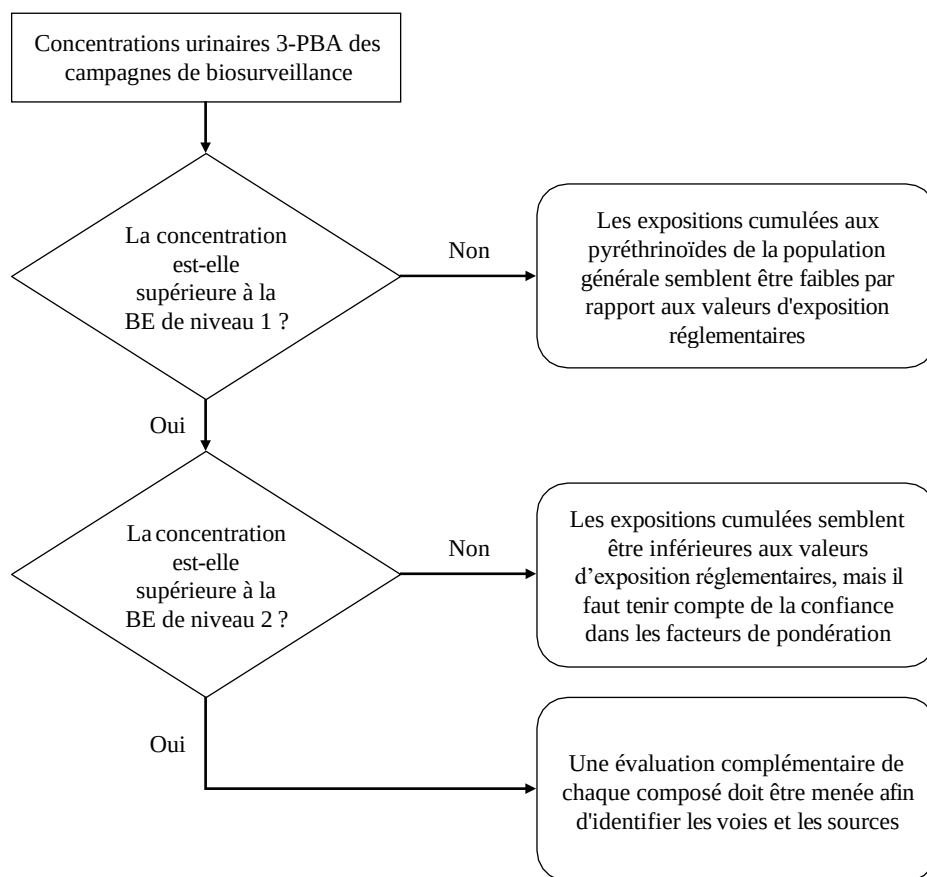


Figure 10: Diagramme d'interprétation des valeurs BE de niveaux 1 et 2 pour la 3-PBA urinaire dans l'évaluation des données de biosurveillance de la population. Adapté de Aylward et al. (2018).

A titre de comparaison avec les mesures de biosurveillance effectuées dans la population générale française (Fréry *et al.*, 2011), la médiane mesurée se situe au-dessous des deux approches (0,65 µg/L) mais le 95^{ème} percentile semble excéder la première approche (4,36 µg/L). Cette comparaison confirme qu'il faut aller plus loin dans l'évaluation des risques, d'autant plus que le deuxième niveau n'est pas applicable pour la population française. Une des incertitudes de l'étude d'Aylward *et al.* (2018) est la prise en compte de la toxicocinétique des composés. En effet, l'hypothèse est faite que les composés ont une fraction d'excrétion molaire commune pour le 3-PBA. D'autre part, la physiologie n'est pas du tout prise en compte et ce afin d'améliorer l'aspect mécanistique de l'évaluation.

1.3. La modélisation toxicocinétique : un lien entre expositions et biomarqueurs

La modélisation des données de cinétique *via* les modèles pharmacocinétiques à base physiologique (PBPK) permet d'approfondir la compréhension de la cinétique de la substance chimique. Dans cette partie est abordée la structure et la paramétrisation des modèles PBPK puis les données toxicocinétiques disponibles et les modèles PBPK pour les pyréthrinoides.

1.3.1. Modèles toxicocinétiques à base physiologique

Le niveau de l'exposition interne chez l'humain dépend de l'exposition externe ainsi que de la toxicocinétique des substances *via* les processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion (ADME). Les modèles toxicocinétiques sont des outils mathématiques utilisés pour décrire les processus ADME dans les organismes vivants et visent à lier une exposition externe à une dosimétrie interne chez l'humain (par exemple, la concentration dans le sang, l'urine ou les tissus). Une classe de modèles toxicocinétiques, les modèles pharmacocinétiques à base physiologique (PBPK), est fondée sur la description des processus ADME, sur la physiologie et l'anatomie des individus ainsi que sur les propriétés physico-chimiques des substances (Andersen, 1991; Nestorov, 2003; Reddy *et al.*, 2013). Un modèle PBPK subdivise le corps en compartiments représentant des organes reliés par le sang. Les paramètres physiologiques et physico-chimiques du modèle sont spécifiques à l'organisme ou aux substances, tels que les volumes des organes, les flux sanguins tissulaires, les affinités des substances pour les tissus et la clairance métabolique.

Les modèles PBPK peuvent être utilisés dans l'évaluation de l'exposition pour estimer l'exposition externe à l'aide de données de biosurveillance humaine telles que les concentrations de produits chimiques dans le sang ou l'urine (Clewell et Clewell, 2008; Ulaszewska *et al.*, 2012). Ces prédictions peuvent ensuite être comparées aux normes d'exposition existantes ou à des valeurs de référence telles que les DJA. Les modèles PBPK peuvent être spécifiques à une substance ou à une famille chimique, mais certains d'entre eux se veulent génériques, c'est-à-dire qu'ils s'appliquent à un grand nombre de substances, d'individus ou de populations différentes (Beaudouin *et al.*, 2010; Clewell *et al.*, 2004; Edginton *et al.*, 2006). Enfin, la variabilité, l'incertitude et la sensibilité des paramètres qui constituent les modèles PBPK

peuvent également être évaluées, ce qui est souhaitable pour les modèles utilisés par exemple dans un contexte d'évaluation de risque.

1.3.1.1. *Structure des modèles PBPK*

Un modèle PBPK a pour objectif de décrire de manière plus ou moins détaillée le devenir d'une substance dans l'organisme d'une espèce (humain, rongeur, poisson...). La structure d'un modèle PBPK repose donc sur l'anatomie et la physiologie de l'espèce mais aussi sur les interactions entre les tissus et la substance. Il n'est pas toujours utile de décrire de manière détaillée l'ensemble des tissus et organes composant l'organisme mais seulement les organes ou tissus nécessaires à la description des processus ADME.

Des structures de modèle différentes peuvent être élaborées pour une même espèce et pour une même substance. En fonction des données et de la question à laquelle le modèle doit répondre, il est possible d'agréger certains organes ensemble. Par exemple les organes rapidement perfusés (foie, rein, rate...) et les organes pauvrement perfusés (tissu adipeux, peau...). D'autre part il est essentiel de prendre en compte la disponibilité de données expérimentales chez l'espèce étudiée permettant d'évaluer les prédictions du modèle.

Par exemple, Beaudouin *et al.* (2010) ont proposé une structure de modèle PBPK permettant de simuler le devenir d'une substance chimique chez l'homme et la femme durant la vie entière. En effet, le modèle prend en compte l'évolution temporelle des paramètres physiologiques et anatomiques. La structure du modèle est identique pour les hommes et les femmes. Ce modèle propose une description de la cinétique des substances chimiques dans le corps humain avec 22 organes (Figure 11).

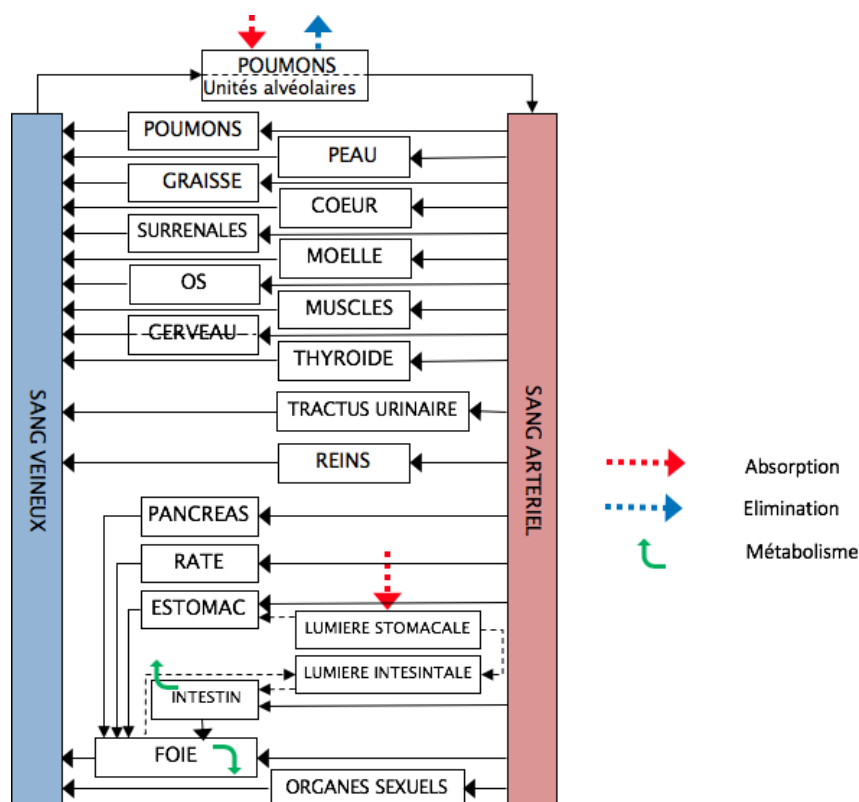


Figure 11: Exemple de modèle PBPK comprenant différents sites d'absorption et d'excrétion. Adapté de Beaudouin et al. (2010).

Pour pouvoir développer un modèle PBPK, il est essentiel d'avoir des connaissances sur les processus ADME. Ainsi, nous allons maintenant décrire ces différents processus dans les parties suivantes.

1.3.1.1.1. Absorption

L'absorption d'une substance peut s'effectuer par trois différentes voies : l'inhalation (par les poumons), le contact cutané (par la peau) ou l'ingestion (par le tractus gastro-intestinal). Un ensemble de mécanismes complexes régit le passage de la substance entre le site d'administration et la circulation sanguine, que seule une fraction atteindra. La quantité de molécule absorbée dépend de la dose, de la voie d'administration, de la durée d'exposition, des propriétés physico-chimiques de la molécule (solubilité, vitesse de dissolution) et de la nature du transport emprunté par la molécule à travers les membranes cellulaires. Pour chaque voie d'exposition, la modélisation de ces mécanismes repose sur un nombre limité de paramètres spécifiques à la substance et sur la description physiologique des sites d'administration. Selon le type de molécules et des données existantes, plusieurs modèles sont disponibles pour chaque voie d'administration avec des niveaux de détails différents.

Le tractus gastro-intestinal peut être modélisé avec quatre compartiments : l'intestin, l'estomac et leurs lumières respectives. La substance pénètre d'abord dans la lumière de l'estomac et peut soit être absorbée et passer dans la paroi de l'estomac, soit être transférée dans la lumière de l'intestin. Dans la lumière intestinale, la substance peut être absorbée (et atteindre la circulation systémique *via* la paroi intestinale) ou être excrétée dans les fèces. Les échanges entre la lumière et la paroi sont modélisés par une réaction du premier ordre dépendant de la concentration de contaminant dans la lumière de l'estomac ou de l'intestin. Les paramètres $Ka_{estomac}$ et $Ka_{intestin}$ régissent la diffusion des substances chimiques dans l'estomac et dans l'intestin, respectivement, puis dans la circulation systémique. L'absorption a lieu dans la lumière de l'estomac (Ing est le taux d'ingestion). Dans l'intestin, les substances chimiques peuvent aussi être métabolisées ($QMet_{intestin}$). Le tractus gastro-intestinal peut être modélisé comme suit :

$$\begin{aligned} \frac{dQ_{estomac_{lum}}(t)}{dt} &= Ing - F_{estomac_{lum}} + K_{a_{estomac}} \times C_{estomac_{lum}}(t) \\ \frac{dQ_{estomac}(t)}{dt} &= K_{a_{estomac}} \times C_{estomac_{lum}}(t) + F_{estomac_{lum}} \times C_{art}(t) + \frac{C_{estomac}(t)}{CP_{estomac}} \\ \frac{dQ_{intestin_{lum}}(t)}{dt} &= F_{intestin_{lum}} \times C_{estomac_{lum}}(t) + K_{e_{bile}} \times C_{foie}(t) \\ &\quad - (K_{a_{intestin}} + F_{intestin_{lum}}) \times C_{intestin_{lum}}(t) \\ \frac{dQ_{intestin}(t)}{dt} &= K_{a_{intestin}} \times C_{intestin_{lum}}(t) + F_{intestin_{lum}} \times (C_{art}(t) + \frac{C_{intestin}(t)}{CP_{intestin}}) \\ &\quad - QMET_{intestin}(t) \end{aligned}$$

Où Q représente la quantité dans chaque compartiment, C la concentration, F le flux sanguin, CP le coefficient de partage tissu : sang, C_{art} la concentration artérielle et $K_{e_{bile}}$ l'excrétion biliaire.

Concernant la modélisation de l'exposition *via* l'inhalation, on suppose que les échanges gazeux ont lieu dans les alvéoles situées au bout de l'arbre respiratoire. Les échanges gazeux sont modélisés dans un compartiment appelé espace alvéolaire qui est distinct des poumons en tant qu'organe (c'est-à-dire avec des processus de distribution, d'accumulation ou d'élimination). Dans la structure du modèle PBPK, l'espace alvéolaire est situé entre le sang veineux et les poumons.

Les échanges entre l'air et le sang sont modélisés comme suit :

$$\frac{d_{EspaceAlv}(t)}{dt} = F_t \times C_{ven}(t) - C_{alv}(t) + VentAlv \times C_{inh}(t) \times Abs_{inh} - VentAlv \times \frac{C_{alv}(t)}{PC_{sang:air}}$$

Où F_t est le débit cardiaque (débit sanguin total) C_{ven} est la concentration veineuse, C_{alv} la concentration dans l'espace alvéolaire, $VentAlv$ le taux de ventilation alvéolaire, C_{inh} la concentration de contaminant dans l'air inhalée et Abs_{inh} la fraction de contaminant inhalée. Cette façon de modéliser nécessite d'émettre quelques hypothèses : i) un flux d'air unidirectionnel est supposé dans la région de l'échange gazeux, ii) un équilibre rapide est atteint entre l'air et le sang dans les alvéoles.

Enfin la modélisation de l'exposition *via* contact cutané intégrée à un modèle PBPK peut être établie de manière plus ou moins complexe en fonction des données physiologiques et substances spécifiques disponibles. L'absorption d'une substance chimique déposée sur la peau peut être modélisée à l'aide de termes de premier ordre. Dans ce cas, il est préférable de séparer la peau des autres tissus, de différencier la peau viable (*pv*) (derme et épiderme) de la couche cornée (*cc*) (la couche supérieure de la peau exposée) :

$$\begin{aligned}\frac{dQ_{surf}(t)}{dt} &= Q_{cont} - Ka_{s-cc} \times Q_{surf} \\ \frac{dQ_{cc}(t)}{dt} &= Ka_{s-cc} \times Q_{surf} - Ka_{cc-pv} \times Q_{cc} \\ \frac{dQ_{pv}(t)}{dt} &= Ka_{cc-pv} \times Q_{cc} + F_{pau} \times (C_{art}(t) - \frac{C_{pv}(t)}{CP_{pv}})\end{aligned}$$

où Q_{surf} représente la quantité à la surface, Q_{cont} , la quantité de contaminant au contact direct de la surface de la peau, Q_{cc} , la quantité dans la couche cornée, Q_{pv} , la quantité dans la peau viable, Ka_{s-cc} , un taux d'absorption entre la surface et la couche cornée et Ka_{cc-pv} entre la couche cornée et la peau viable.

1.3.1.1.2. Distribution

La distribution fait référence à la liaison réversible d'une substance dans les différents tissus du corps à partir de la circulation systémique. Chaque organe ou tissu peut recevoir différentes doses de la substance et la substance peut rester dans les organes ou les tissus pendant une durée

variable. La substance peut être transférée du sang au tissu jusqu'à ce que l'équilibre soit établi. La distribution dans les tissus ou les organes dépend de facteurs liés à la physiologie de l'individu (par exemple, la perméabilité vasculaire, le débit sanguin régional, le débit cardiaque et le débit de perfusion du tissu) et de facteurs liés à la substance (par exemple, la taille moléculaire, la solubilité dans les lipides, l'affinité pour se lier aux protéines tissulaires et plasmatiques). La distribution se produit rapidement dans les tissus rapidement perfusés tels que le foie, le cœur et les reins. D'autres substances auront tendance à s'accumuler dans des tissus présentant une vitesse de distribution plus lente (tels que les muscles ou les tissus adipeux).

La distribution d'une substance au sein d'un tissu peut être limitée par la perfusion de ce tissu ou bien par la perméabilité tissulaire. Selon la nature de la distribution, les équations prédisant l'évolution de la quantité de la substance au sein du tissu diffèrent. Lors d'une distribution limitée par la perfusion, la substance est supposée se distribuer uniformément et instantanément dans le volume total du tissu (t) :

$$\frac{dQ_t(t)}{dt} = F \times \zeta_t(t) - \frac{C_t(t)}{CP}$$

Dans le cas d'une limitation par la diffusion, la distribution d'une substance est dépendante de la perméabilité de l'organe. Afin de retranscrire la lenteur du processus, l'organe est subdivisé en deux sous-compartiments : l'espace extracellulaire correspondant à la vascularisation du tissu et l'espace intracellulaire. Les quantités dans l'espace vasculaire et le tissu sont respectivement donnés par les équations suivantes :

$$\frac{dQ_{vasc}(t)}{dt} = F \times \zeta_t(t) - C_{vasc}(t) - PER_t \times \zeta_{tusc}(t) - \frac{C_t(t)}{CP}$$

$$\frac{dQ_t(t)}{dt} = PER_t \times \zeta_{tusc}(t) - \frac{C_t(t)}{CP}$$

où PER_t représente par le coefficient de perméabilité d'échange entre les deux compartiments, Q_{vasc} et C_{vasc} la quantité et concentration dans l'espace vasculaire.

1.3.1.1.3. Métabolisme

En raison de la quantité d'enzymes présente dans les organes, le métabolisme a lieu de manière

importante dans le foie mais peut aussi se produire dans les intestins, les poumons ou les reins. Le métabolisme aura un impact dès l'ingestion sur la part de la quantité de la substance qui atteindra la circulation systémique de par le métabolisme intestinal et le premier passage

hépatique. La clairance correspond à la capacité d'un organe à épurer le sang de la substance en fonction du temps. Quand cette capacité est considérée indépendamment des facteurs physiologiques influant sur la clairance globale de l'organe, la clairance est dite intrinsèque. Le métabolisme est en principe un processus à capacité limitée, c'est-à-dire un processus saturable. C'est la raison pour laquelle le métabolisme d'une substance est généralement décrit par un processus d'élimination de premier ordre ou par un processus non-linéaire comme la relation saturable de type Michaelis-Menten.

La capacité métabolique intrinsèque d'un organe est déterminée par sa teneur en enzyme, son efficacité catalytique et par l'affinité de liaison à la substance. Le métabolisme est souvent calculé sur la base de la vitesse maximale de transformation du substrat (V_{max}), de l'affinité entre la substance et l'enzyme métabolisant (K_m) et de la concentration libre de la substance ($C_t(t)$). L'évolution de la quantité de matière au sein de l'organe est alors :

$$\frac{dQ_t(t)}{dt} = F \times C_t(t) - \frac{V_{max} \times C_t(t)}{K_m + C_t(t)}$$

Lorsque la concentration de la substance est bien inférieure à celle du K_m (ordre 1), la relation devient linéaire entre la vitesse d'élimination et la concentration de la substance et l'équation peut alors être simplifiée en :

$$\frac{dQ_t(t)}{dt} = F \times C_t(t) - CL_{hépatique} \times C_t(t)$$

où $CL_{hépatique}$ la clairance de l'organe correspondant au ratio V_{max} sur K_m .

1.3.1.1.4. Excrétion

Ce phénomène correspond à l'élimination de la substance (composé parent et/ou métabolites) de l'organisme. Les voies d'élimination peuvent être la voie rénale, fécale, biliaire, pulmonaire, ou s'effectuer par le biais de la sueur ou du lait maternel. Le rein est un des sites majeurs de l'excrétion. La clairance totale d'un produit chimique de la circulation systémique est alors égale à la somme de tous les processus de clairance individuels (élimination) se déroulant en parallèle.

1.3.1.2. Paramétrisation des modèles PBPK

Dès lors que le système d'équations différentielles est établi, des valeurs doivent être assignées aux paramètres pour pouvoir l'utiliser. Les paramètres nécessaires sont ceux liés à l'anatomie et la physiologie de l'espèce (flux sanguins et volume des organes), ceux relatifs à l'absorption et à l'excrétion de la substance, les coefficients de partage tissu : sang, les coefficients de perméabilité ou encore les clairances métaboliques (processus ADME).

Les paramètres relatifs à l'anatomie et la physiologie étant relativement bien connus, les valeurs peuvent donc être directement intégrées dans le modèle PBPK. Pour les autres paramètres, il existe différentes approches possibles pour estimer les paramètres : les données *in vivo*, l'expérimentation *in vitro* ou l'utilisation de modèles quantitatifs structure-activité (modèle QSAR). Les aspects financiers, techniques, éthiques et surtout prédictifs devront être pris en compte afin de sélectionner quelle approche sera la plus pertinente et viable dans une étude.

1.3.1.2.1. Estimation *in vivo* des paramètres

Les paramètres physiologiques et anatomiques sont, en général, les seuls paramètres directement observables ou mesurables (le poids corporel, les volumes des organes). Certains paramètres étant difficilement mesurables, des relations entre les paramètres les plus facilement mesurables ont été établies. Par exemple les flux sanguins de chaque organe sont typiquement exprimés en fonction du débit cardiaque. Des relations quantitatives liant le poids corporel, les volumes des organes ou d'autres paramètres physiologiques liés l'âge et le sexe ont déjà été développées (Clewett *et al.*, 2004; Haddad *et al.*, 2001; Price *et al.*, 2003). Ces relations permettent donc de prendre en compte l'évolution dans le temps (de la naissance à la fin de vie) des paramètres physiologiques et anatomiques. Ces évolutions ont par exemple été prises en compte dans le modèle de Beaudoin *et al.* (2010). Les prédictions des équations utilisées pour décrire ces évolutions ont été confrontées à des données humaines afin de s'assurer des précisions des résultats. Enfin, il existe aujourd'hui des bases de données incorporant la variabilité individuelle ou les variations physiologiques ou anatomique provoquées par des problèmes de santé (diabète, obésité, maladies cardiaques ou rénales). L'avantage des paramètres *in vivo* est d'intégrer le système biologique dans son ensemble. En revanche, les extrapolations des paramètres mesurés chez les animaux vers les humains restent parfois problématiques pour l'anatomie.

1.3.1.2.2. Estimation *in vitro* des paramètres

Les progrès remarquables réalisés ces dernières années dans les technologies *in vitro* ouvrent la possibilité d'intégrer directement les paramètres cinétiques dérivés *in vitro* aux modèles PBPK (Yoon et al 2015). Le choix d'un système d'étude *in vitro* dépend de l'application prévue des résultats. Ce choix est primordial pour obtenir des données valables pouvant être extrapolées pour décrire sur une base biologique, réaliste et pertinente le compartiment concerné (Lipscomb et Poet, 2008). Les tests *in vitro* peuvent être réalisés au sein d'environnement de culture à l'échelle macroscopique ou microscopique. L'absorption par voie orale ou cutanée peut être déterminée sur un système *in vitro* composé d'un compartiment donneur et d'un compartiment récepteur séparés par une membrane où sont cultivées des cellules spécifiques au système étudié (Caco-2 ou des peaux natives animales ou humaines, des peaux artificielles ou encore reconstruites).

Les données de métabolisme *in vivo* ne sont souvent pas disponibles chez l'humain mais les paramètres métaboliques peuvent être facilement dérivés *in vitro*. Le métabolisme peut être mesuré *in vitro* et extrapolé pour rendre compte du métabolisme *in vivo* lorsqu'ils sont liés à un modèle PBPK afin de décrire les processus physiologiques (Lipscomb et Poet, 2008). Les systèmes *in vitro* permettent notamment d'isoler des processus tels que le métabolisme de phase I et le métabolisme de phase II, ou la bioactivation et la détoxification. De plus, les systèmes *in vitro* permettent des dépenses de recherche réduites et des délais d'obtention des résultats plus rapides. En revanche, les systèmes *in vitro* simplifient la réalité biologique et induisent des interactions entre la substance et le dispositif qui doivent être prises en compte dans l'analyse des données. Dans une certaine mesure, les modèles PBPK en intégrant un aspect mécanistique des processus biologiques et biochimiques permettent d'éviter des pièges associés à l'extrapolation des évaluations métaboliques *in vitro* pour décrire la clairance *in vivo* (Lipscomb et Poet, 2008).

Différentes études *in vitro* ont été menées pour les pyréthrénoïdes. La clairance intrinsèque a par exemple été déterminée chez l'humain à partir de microsomes hépatiques pour la deltaméthrine (Godin *et al.*, 2006), la β -cyfluthrine, la cyperméthrine, la *cis*- et la *trans*-perméthrine (Scollon *et al.*, 2009) ou à partir d'hépatocytes primaires pour la *cis*- et la *trans*-perméthrine (Willemin *et al.*, 2015). Le Tableau 4 présente les clairances déterminées *in vitro* pour les pyréthrénoïdes. Les clairances intrinsèques estimées pour la *cis*- et *trans*-perméthrine par Willemin *et al.* (2015) sur hépatocytes primaires sont inférieures à celles déterminées précédemment par Scollon *et al.* (2009) sur les microsomes humains. Ces différences

significatives entre les taux métaboliques estimés dérivés des hépatocytes ou des microsomes ne sont pas rares et ont déjà été observées pour d'autres substances (Brown *et al.*, 2007; Hallifax *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2006). Les voies hydrolytiques et oxydatives principalement responsables du métabolisme de la perméthrine sont toutes deux activées dans les microsomes et les hépatocytes, mais les niveaux et les activités des enzymes métabolisantes sont différents.

Tableau 4: Clairances intrinsèque déterminées par méthodes *in vitro* pour les pyréthrinoïdes (L/h/kg).

Clairance (L/h/kg)	Godin <i>et al.</i> (2006)	Scollon <i>et al.</i> (2009)	Willemain <i>et al.</i> (2015)
Deltaméthrine	9,73	-	-
β-cyfluthrine	-	5,34	-
Cyperméthrine	-	6,24	-
Cis-perméthrine	-	3,12	1,56
Trans-perméthrine	-	38,16	3,97

1.3.1.2.3. Estimation QSAR des paramètres

Les modèles QSAR regroupent diverses approches mathématiques (régression multivariée, analyse discriminante) permettant de prédire, grâce à des statistiques, la relation entre structure chimique et activité biologique d'une substance. Depuis les années 1960, le développement et l'utilisation des modèles QSAR ont connu un essor croissant soit pour des applications industrielles, soit pour des applications réglementaires. Un modèle QSAR est développé à partir d'un ensemble de substances pour lesquelles l'activité ou la propriété sont connues (par exemple, par expérimentations *in vitro* ou *in vivo*). Ce modèle peut ensuite être utilisé pour prédire cette même activité ou propriété pour une nouvelle substance, à la condition que cette dernière soit incluse dans le domaine d'application du modèle.

Plusieurs approches utilisant des modèles QSAR ont été proposées pour la prédiction des coefficients de partage tissu : sang pour des composés organiques (DeJongh *et al.*, 1997; Poulin et Krishnan, 1995), des composées non ionisables (Baláz et Lukáčová, 1999) et ionisables (Zhang, 2005). D'autres algorithmes prédisent le métabolisme induit par exemple par les cytochromes P450 et permettent ainsi d'estimer des valeurs de V_{max} , K_m ou $CL_{intestin}$ ou $CL_{hépatique}$ (Galliani *et al.*, 1984; Knaak *et al.*, 2004). Enfin, il existe un lien entre la répartition du sang, de l'air et des tissus et les propriétés des produits chimiques à l'aide de l'équation d'Abraham *et al.* (1993).

Knaak *et al.* (2012) ont par exemple utilisé des modèles QSAR pour prédire la liaison des pyréthrinoïdes aux protéines plasmatiques et hépatiques, les valeurs de K_m et V_{max} ou encore les coefficients de partage tissu:sang d'une dizaine de pyréthrinoïdes et de leurs isomères.

1.3.1.2.4. Évaluation des modèles toxicocinétiques

L'évaluation du modèle fait partie intégrante de son développement afin de démontrer de manière objective la fiabilité et la pertinence du modèle. L'évaluation du modèle est souvent associée à un objectif défini, comme la mesure de la dosimétrie interne en rapport avec le mode d'action de la substance qui peut être l'aire sous la courbe ou la concentration maximale dans les tissus cibles pendant une période critique. L'objectif de l'évaluation est de déterminer les capacités prédictives du modèle. Un moyen usuel d'évaluer la prédictibilité d'un modèle consiste à confronter ses prédictions à un ensemble de données indépendant, c'est-à-dire qui n'a pas été utilisé pour la paramétrisation du modèle. La comparaison des modèles PBPK avec des données expérimentales peut être réalisée à l'aide d'une inspection visuelle ou de tests statistiques simples (Chiu *et al.*, 2007). Par exemple, les graphiques de résidus peuvent être utiles pour identifier si les prédictions du modèle sont en adéquation avec les données (Iyengar et Rao, 1983).

L'inspection visuelle, une approche fréquemment utilisée, se concentre sur la capacité qualitative du modèle à reproduire la forme de l'évolution temporelle des concentrations chimiques dans les matrices biologiques. Par conséquent, si le modèle reproduit de manière cohérente la tendance générale des données (pics, saturation du métabolisme, *etc.*) une confiance plus importante lui sera donnée (Chiu *et al.*, 2007). En essayant de comparer les simulations de modèles et les données expérimentales, il est important de considérer que les deux sont sujets à des incertitudes (Marcus et Elias, 1998; OMS/IPCS, 2008). Les données expérimentales, fréquemment obtenues chez quelques animaux de laboratoire ou volontaires humains, peuvent constituer un échantillon biaisé qui peut ne pas refléter toute la gamme de valeurs dans la population. D'autre part, un modèle déterministe prédit la concentration moyenne alors qu'une seule observation expérimentale ne constitue qu'un échantillon de la plage hypothétiquement infinie d'observations de cette expérience identique (Veerkamp et Wolff, 1996). En fonction des connaissances sur les paramètres, des distributions peuvent être attribuées et des simulations Monte Carlo réalisées afin de retranscrire les incertitudes et la variabilité dans les prédictions (par exemple, les 5^{ème} et 95^{ème} percentiles).

Lorsque le jeu de données utilisé pour la paramétrisation et le jeu de données d'évaluation sont obtenus chez des individus différents, il est possible que les simulations ne correspondent pas parfaitement aux données de toxicocinétique. Par conséquent, un certain niveau de discordance est à prévoir. La confiance dans un modèle PBPK sera plus grande s'il simule correctement les données toxicocinétiques utilisées pour la paramétrisation, ainsi que celles ne faisant pas partie de l'ensemble de données de paramétrisation.

L'évaluation du modèle ne se limite pas à une confrontation entre les prédictions du modèle et les données. Elle nécessite également de vérifier la plausibilité de la structure du modèle, sa paramétrisation et la correction mathématique des équations (par exemple, la conservation de la masse, les volumes d'organes et les flux sanguins). En raison de leur description mécaniste des processus ADME, les structures du modèle PBPK et les valeurs des paramètres doivent être conformes à la réalité biologique (Rescigno et Beck, 1987). Les valeurs de paramètre incompatibles avec les connaissances physiologiques et biologiques limitent l'utilisation du modèle pour l'extrapolation à d'autres scénarios d'exposition et doivent finalement être corrigées par l'acquisition de nouvelles données.

1.3.1.2.5. L'analyse de sensibilité

Dans les modèles de systèmes biologiques, les estimations des valeurs des paramètres de modèle auront toujours une certaine variabilité, due à la fois à la variation biologique et aux erreurs expérimentales ou de modèle.

L'analyse de sensibilité étudie l'impact de l'incertitude des paramètres d'entrée sur la variable de sortie du modèle (Saltelli *et al.*, 2008). Celle-ci est effectuée en déterminant, qualitativement ou quantitativement, la part de variance de la variable de sortie attribuée aux différents paramètres d'entrée (Campolongo et Saltelli, 1997; Patil et Frey, 2004). Une analyse de sensibilité peut permettre d'évaluer et de tester la robustesse du modèle, de réduire l'incertitude, de simplifier le modèle, de calibrer un modèle lorsqu'il est composé d'un grand nombre de paramètres, de détecter des interactions entre les paramètres d'entrée ou encore de prioriser la recherche (Briggs *et al.*, 2012; Cariboni *et al.*, 2007; Hammonds *et al.*, 1994). Deux types d'analyse de sensibilité existent ; l'analyse locale et l'analyse globale.

L'analyse de sensibilité locale permet de réaliser une exploration préliminaire du modèle à un coût de calcul assez réduit. Ce type d'analyse évalue l'influence d'une variation locale de la valeur des paramètres sur les sorties du modèle. Cette analyse est effectuée en calculant les dérivées partielles de la sortie en fonction de chaque paramètre. Dans le cas des modèles

complexes avec un nombre important de paramètres pour lesquels une analyse globale est coûteuse en termes de calcul, l'analyse locale peut s'avérer utile dans l'analyse du comportement du modèle autour de valeurs nominales. Le point faible de cette méthode est dû au fait que les paramètres varient seulement autour de la valeur nominale choisie et que donc le résultat est fortement dépendant de cette valeur. De plus cette méthode nécessite de considérer que le modèle est linéaire.

L'analyse de sensibilité globale étudie l'effet sur les variables sorties des paramètres d'entrée considérés sur tout leur domaine de variation. Dans l'analyse de sensibilité globale, les paramètres varient tous en même temps, et non pas seulement un à la fois comme dans l'analyse de sensibilité locale. Parmi les méthodes d'analyse de sensibilité globale, les méthodes basées sur la décomposition de la variance sont indépendantes de la structure du modèle et sont basées sur la décomposition de la variance de la sortie. L'utilisation de méthodes basées sur la décomposition de la variance implique de calculer 2 indices : l'indice de premier ordre ou effet principal (S_i) et l'indice total (ST_i). L'effet de premier ordre calcule la contribution de chaque paramètre sur la variance de la sortie. L'indice de l'effet de premier ordre de sensibilité correspondant à un paramètre (X_i) se calcule en utilisant l'équation suivante (Confalonieri *et al.*, 2010) :

$$S_i = \frac{V[E(Y|X_i)]}{V(Y)}$$

où $V(Y)$ représente le partage de la variance totale du modèle de sortie

S_i ne prend pas en compte l'interaction entre les paramètres. Deux paramètres interagissent si l'effet total sur la sortie n'est pas égal à la somme de leurs effets de premier ordre. Pour un paramètre d'entrée X_i , l'index de sensibilité total ST_i est défini comme la somme de l'ensemble des indices de X_i (premier et plus élevés). L'indice de sensibilité totale correspondant à un paramètre (index i) et l'interaction avec d'autres paramètres qui augmente l'index i et au moins un index $j \neq i$ de 1 à n (Confalonieri *et al.*, 2010) :

$$ST_i = \sum S_i + \sum_{j \neq i} S_{ij} + \dots S_{1\dots n}$$

Il existe plusieurs méthodes graphiques afin de représenter les résultats d'une analyse de sensibilité locale ou globale. Par exemple, la Figure 12 présente les résultats de l'analyse de sensibilité de Mirfazaelian *et al.* (2006). La méthode utilisée est une analyse de sensibilité locale avec le calcul d'un *Normalized sensitivity coefficient*. Pour l'analyse de sensibilité globale, une

représentation graphique possible présente à la fois les résultats de l'indice de l'effet de premier ordre et l'indice total (Figure 13).

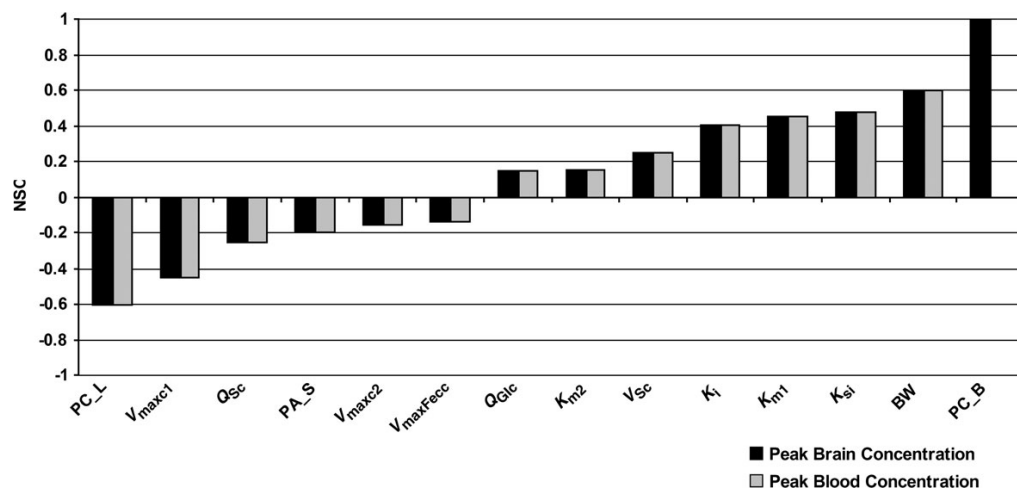


Figure 12 : Résultats de l'analyse de sensibilité locale de Mirfazaelian et al. (2006) pour la concentration maximale dans le cerveau et le sang.

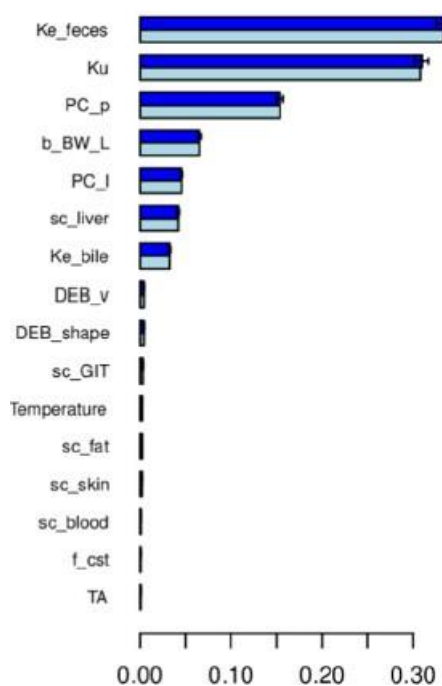


Figure 13 : Résultats de l'analyse de sensibilité globale (Grech et al., 2019). Les indices de sensibilité de premier ordre sont représentés en bleu clair et les totaux totale en bleu foncé.

1.3.2. Toxicocinétique des pyréthrinoïdes : données expérimentales et modélisation PBPK

La toxicocinétique des pyréthrinoïdes a été caractérisée principalement à partir d'études expérimentales animales. Des études humaines en conditions contrôlées ont aussi été menées chez des volontaires, et ces dernières portent essentiellement sur l'excrétion des métabolites dans les urines. Dans la suite, sont présentés les études expérimentales des processus ADME de la perméthrine, cyperméthrine, cyfluthrine, deltaméthrine, ainsi que les modèles PBPK publiés. La toxicocinétique des métabolites est aussi abordée.

1.3.2.1. Deltaméthrine et métabolites

La deltaméthrine a été un des premiers pyréthrinoïdes étudiés pour sa toxicocinétique. Cela peut venir du fait que, contrairement aux autres pyréthrinoïdes, la formulation commerciale ne tient un compte que d'un seul isomère, le *cis*. La Figure 14 présente la structure chimique de la deltaméthrine.

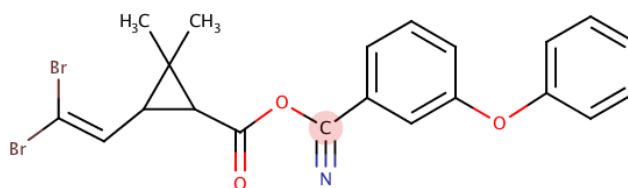


Figure 14 : Structure chimique de la deltaméthrine.

1.3.2.1.1. Études expérimentales

Plusieurs études chez l'animal ou l'humain ont montré que la deltaméthrine peut être absorbée par voie orale (Khan *et al.*, 1986; Sams et Jones, 2012; Papalexiou *et al.*, 1984; Godin *et al.*, 2010 ; Mirfazaelian *et al.*, 2006) et par voie cutanée (Hughes et Edwards, 2010). L'absorption orale est rapide, entre 1 et 2 heures (Godin *et al.*, 2010; Mirfazaelian *et al.*, 2006). La biodisponibilité chez le rat est estimée entre 25 % et 28 % et ne semble pas être dépendante de la dose administrée (Godin *et al.*, 2010). L'absorption par la voie cutanée est très faible. Entre 2 à 5 % de la dose franchit la barrière cutanée chez le rat, et environ 1 à 2 % chez l'humain 24 heures après l'application (Hughes et Edwards, 2010). La peau du rat semble donc légèrement plus perméable à la deltaméthrine que la peau humaine.

La deltaméthrine se distribue dans de nombreux tissus plus ou moins rapidement. Dans le foie et le cerveau, la concentration augmente rapidement après ingestion orale, atteignant son maximum 1 à 3 heures après l'exposition et diminuant rapidement dans les 8 à 12 heures suivant l'exposition (Anadón *et al.*, 1996; Godin *et al.*, 2010). En revanche, la deltaméthrine s'accumule dans les tissus adipeux, où la concentration atteint son maximum 8 heures après l'administration orale et reste constante durant les 48h suivantes (Godin *et al.*, 2010). Le composé est aussi distribué dans les tissus nerveux après l'administration d'une dose orale unique, avec une demi-vie de distribution d'environ 2 heures (Anadón *et al.*, 1996). Les concentrations dans les tissus nerveux étaient supérieures à celles mesurées dans le plasma, ce qui indique que la deltaméthrine est concentrée dans le tissu nerveux par rapport au plasma. La deltaméthrine et son métabolite 4-OH ont également été détectés dans le canal déférent à des concentrations supérieures à celles du plasma, mais inférieures à celles observées dans les tissus nerveux (Anadón *et al.*, 1996).

La demi-vie d'élimination de la deltaméthrine chez le rat est comprise entre 18 et 41 heures (Anadón *et al.*, 1996). Pour la voie orale, environ 20 % de la dose est excrétée dans les fèces et environ 50 % dans les urines sous forme de métabolites (Cole *et al.*, 1982; Ruzo *et al.*, 1978).

Chez l'humain, l'excrétion cumulative urinaire et fécale représente environ 65 % de la radioactivité totale de la dose administrée (Godin *et al.*, 2010; Papalexiou *et al.*, 1984). L'excrétion des métabolites de la deltaméthrine a été étudiée chez cinq volontaires exposés oralement à la dose journalière admissible (0,01 mg/kg). Leurs urines ont été collectées durant les 60 heures post-exposition. La demi-vie d'élimination du métabolite DBCA est d'environ 3 heures et celle du 3-PBA de 7 heures. Le taux de DBCA excrété est d'environ 5 fois supérieur à celui de 3-PBA (respectivement 58,3 $\mu\text{mol/mol}$ créatinine et 11,9 $\mu\text{mol/mol}$ créatinine) (Sams et Jones, 2012).

1.3.2.1.2. Modèles PBPK publiés

La deltaméthrine est le premier pyréthrianoïde pour lequel un modèle PBPK a été disponible (Mirfazaelian *et al.*, 2006). La Figure 15 présente le modèle PBPK développé chez le rat par Mirfazaelian *et al.*, (2006). Parmi les voies d'exposition, seule l'ingestion orale a été modélisée. Le modèle décrit le corps en différent compartiments : le foie, le cerveau, les tissus adipeux, le tractus gastro-intestinal, les tissus lentement perfusés et les tissus rapidement perfusés. Le compartiment sanguin est modélisé par deux compartiments, le plasma et les érythrocytes. Le composé est absorbé à la fois dans l'estomac et la lumière intestinale qui sont perfusés. Le

composé entre ensuite directement dans le foie *via* la veine porte. Les transferts du composé (absorptions stomacale et intestinale, et transfert entre estomac et intestin) ont été considérés comme des processus saturables. Trois compartiments ont été définis comme limités par la diffusion (plasma/érythrocytes, tissus adipeux et tissus lentement perfusés). Chez le rat, la deltaméthrine est métabolisée dans le foie par les cytochromes (CYPs) et les carboxylestérases (CaEs) et dans le plasma par les CaEs. Le métabolisme est décrit comme étant un processus saturable avec l'utilisation de la relation de Michaelis-Menten. Enfin, l'excrétion dans les fèces est modélisée par une constante d'ordre 1.

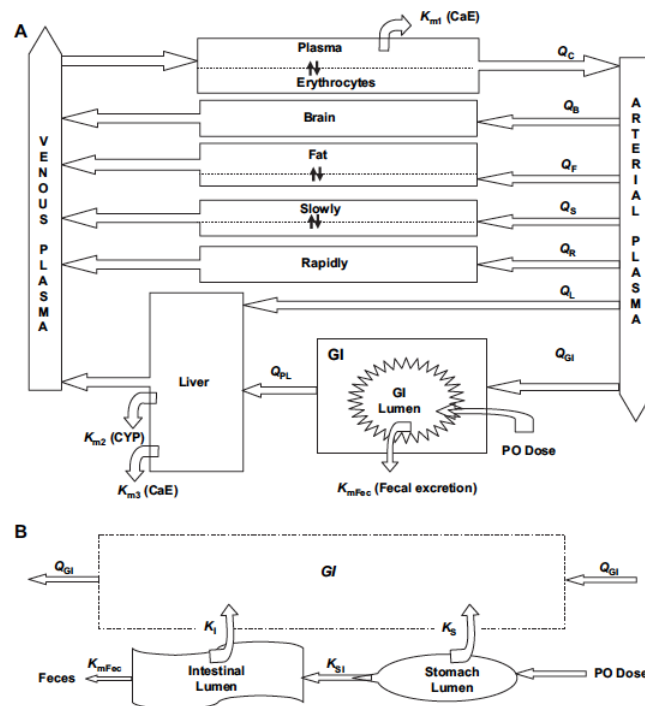


Figure 15 : Structure du modèle PBPK de la deltaméthrine chez le rat développé par Mirfazaelian et al. (2006).

Suite aux travaux de Mirfazaelian *et al.* (2006), Godin *et al.* (2010) ont proposé des modifications à leur modèle PBPK pour le rat et l'ont extrapolé à l'humain (Figure 16). Le modèle initial a été simplifié : un compartiment sanguin total regroupe les compartiments plasmatique et d'érythrocytes du modèle d'origine, le processus d'absorption est défini comme une constante de vitesse de premier ordre, le compartiment gastro-intestinal est simplifié en considérant l'absorption au niveau de l'intestin et représentée une constante de premier ordre. De plus, tous les compartiments sont supposés être limités par la diffusion, le métabolisme est modélisé par une clairance ce qui suppose le métabolisme n'est pas saturé.

Pour l'extrapolation à l'humain, les valeurs des paramètres physiologiques (flux, volume des organes) ont été adaptées (Brown *et al.*, 1997). Des constantes *in vitro* pour le métabolisme hépatique ont été utilisées (Godin *et al.*, 2006). En revanche, aucun métabolisme sanguin n'a été supposé chez l'humain puisque le sérum humain ne contient pas les estérases qui métabolisent le composé parent (Crow *et al.*, 2007; Godin *et al.*, 2006). Tous les autres paramètres du modèle (perméabilité et coefficient de partage) ont été maintenus aux valeurs obtenues chez le rat. Aucune donnée humaine n'était disponible pour évaluer les prédictions du modèle. Une analyse de sensibilité locale a été réalisée afin d'identifier les paramètres impactant le plus les concentrations dans le sang et le cerveau. Les résultats montrent que les paramètres les plus impactant sont le débit sanguin du foie, le coefficient de perméabilité du foie ainsi que les paramètres d'absorption. Les auteurs ont simulé la dosimétrie au niveau du cerveau chez le rat et l'humain et ont observé que le modèle prédisait une concentration cérébrale maximale deux fois plus élevée et une aire sous la courbe trois fois plus grande pour les humains après une exposition orale à 1 mg/kg. Aucun des deux modèles PBPK ne prend en compte de la toxicocinétique des métabolites.

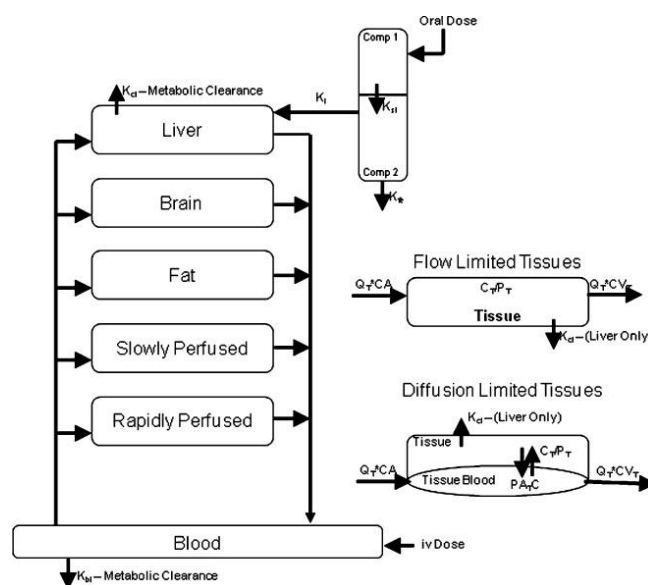


Figure 16 : Structure du modèle PBPK de la deltaméthrine chez le rat et l'humain développé par Godin *et al.* (2010).

1.3.2.2. Perméthrine et ses métabolites

Contrairement à la deltaméthrine, la formulation commerciale de perméthrine est un mélange d'isomères *cis* et *trans* avec des cinétiques différentes. Les Figure 17 et Figure 18 présentent les structures chimiques de la *cis*-perméthrine et *trans*-perméthrine.

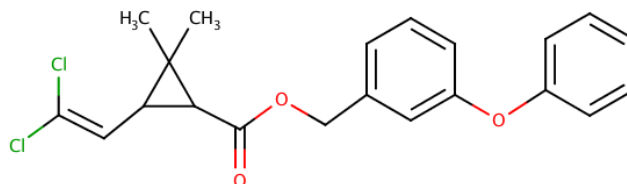


Figure 17 : Structure chimique de la *cis*-perméthrine.

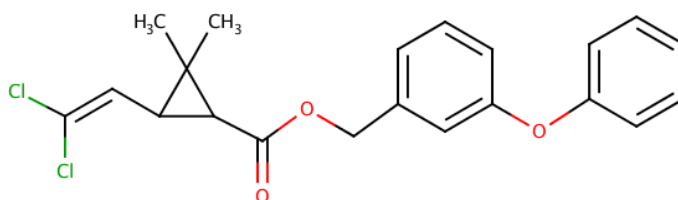


Figure 18 : Structure chimique de la *trans*-perméthrine.

1.3.2.2.1. Études expérimentales

La toxicocinétique de la perméthrine a été étudiée chez le rat et l'humain après exposition orale unique ou exposition cutanée (Anadón *et al.*, 1991; Ratelle *et al.*, 2015a; Tomalik-Scharte *et al.*, 2005; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Willemin *et al.*, 2016). La biodisponibilité par voie orale est de 60 % chez le rat (Anadón *et al.*, 1991; Willemin *et al.*, 2016). L'absorption est rapide (concentration maximale dans le sang 1 à 2 h après administration orale). Suite à une exposition par contact cutané, la biodisponibilité observée est de 1 % (Tomalik-Scharte *et al.*, 2005).

Les cinétiques dans le foie, les reins et les muscles sont similaires à celles observées dans le sang (demi-vie de distribution autour de 4 heures). Concernant les autres organes, la cinétique de la perméthrine est plus lente dans les tissus adipeux (*cis* : 139 heures ; *trans* : 23 heures) et dans une moindre mesure dans le cerveau (*cis* : 7 heures ; *trans* : 4 heures) et les testicules (*cis* : 12heures ; *trans* : non détecté) (Willemin *et al.*, 2016). La concentration maximale dans les tissus adipeux se situe entre 6 à 12 heures après ingestion. Après exposition orale, le temps de résidence de la *cis*-perméthrine est plus important que celui de la *trans*-perméthrine (Tornero-Velez *et al.*, 2012; Willemin *et al.*, 2016). La concentration maximale après une exposition par voie cutanée étant retardé de 3 à 9 heures suite à l'arrêt de l'exposition, il se peut que la

perméthrine soit stockée dans la peau et libérée lentement dans la circulation systémique (Tomalik-Scharte *et al.*, 2005).

L'élimination urinaire des métabolites a été étudiée dans plusieurs études chez l'humain. Le DCCA total a été mesuré dans les urines de six hommes suite à une exposition cutanée contenant un mélange de *cis*- et *trans*-perméthrine (60 g de crème contenant 3 g de perméthrine) (Tomalik-Scharte *et al.*, 2005). La peau des volontaires a été nettoyée après 12 heures d'exposition et des dosages de DCCA dans les urines ont été effectués durant 168 heures. Le temps de demi-vie d'élimination est de 29 heures (± 12 heures) et les pourcentages de dose excrétée est de 0,13 % ($\pm 0,08$ %) au bout de 24 heures et de 0,45 % ($\pm 0,22$ %) à 168 heures. L'élimination urinaire des métabolites est complète après une semaine (Tomalik-Scharte *et al.*, 2005). Une autre étude chez trois hommes et trois femmes exposés par dose orale (0,1 mg / kg poids corporel) d'un mélange de *cis*- et *trans*-perméthrine a mesuré les métabolites dans le sang et les urines (Ratelle *et al.*, 2015a). Les concentrations plasmatiques maximales des métabolites *cis*-DCCA, *trans*-DCCA et 3-PBA ont été atteintes environ 7 heures après l'administration, et les demi-vies d'élimination sont entre 6 et 7 heures (Ratelle *et al.*, 2015a). Dans les urines, les cinétiques du *cis*-DCCA, du *trans*-DCCA et du 3-PBA dans le temps sont identiques à celle du plasma, avec des demi-vies d'élimination entre 5,7 et 4,5 heures (Ratelle *et al.*, 2015a). Au cours des 84 heures qui ont suivi l'exposition, 26 % (± 7 %), 10 % (± 3 %), 46 % (± 21 %) de la dose administrée ont été excrétés dans les urines sous forme respectivement de *trans*-DCCA, *cis*- DCCA et 3-PBA.

Une étude décrivant l'empoisonnement d'un homme à la perméthrine a aussi été rapportée dans la littérature (Gotoh *et al.*, 1998). Les demi-vies de distribution sanguine des isomères *trans* et *cis* sont d'environ 5 heures. L'étude montre aussi que la *trans*-perméthrine devient indétectable dans le sang dans les 25 heures suivant l'absorption, alors que la *cis*-perméthrine a été détectée à 10 jours (Gotoh *et al.*, 1998). Ces résultats sont à mettre au regard de la dose élevée absorbée (environ 630 mg) et des processus saturables qu'elle peut engendrer.

1.3.2.2.2. Modèles PBPK publiés

La perméthrine est le composé pour lequel le plus de modèles PBPK ont été développés chez le rat (Tornero-Velez *et al.*, 2012; Willemmin *et al.*, 2016) et chez l'humain (Darney *et al.*, 2018; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2013). Les modèles PBPK de Tornero-Velez *et al.* (2012), Willemmin *et al.* (2016) et Darney *et al.* (2018) prennent en compte les spécificités

toxicocinétiques des deux isomères, *cis* et *trans*, tandis que celui proposé par Wei *et al.* (2013) ne distingue pas la *cis*- et *trans*-perméthrine.

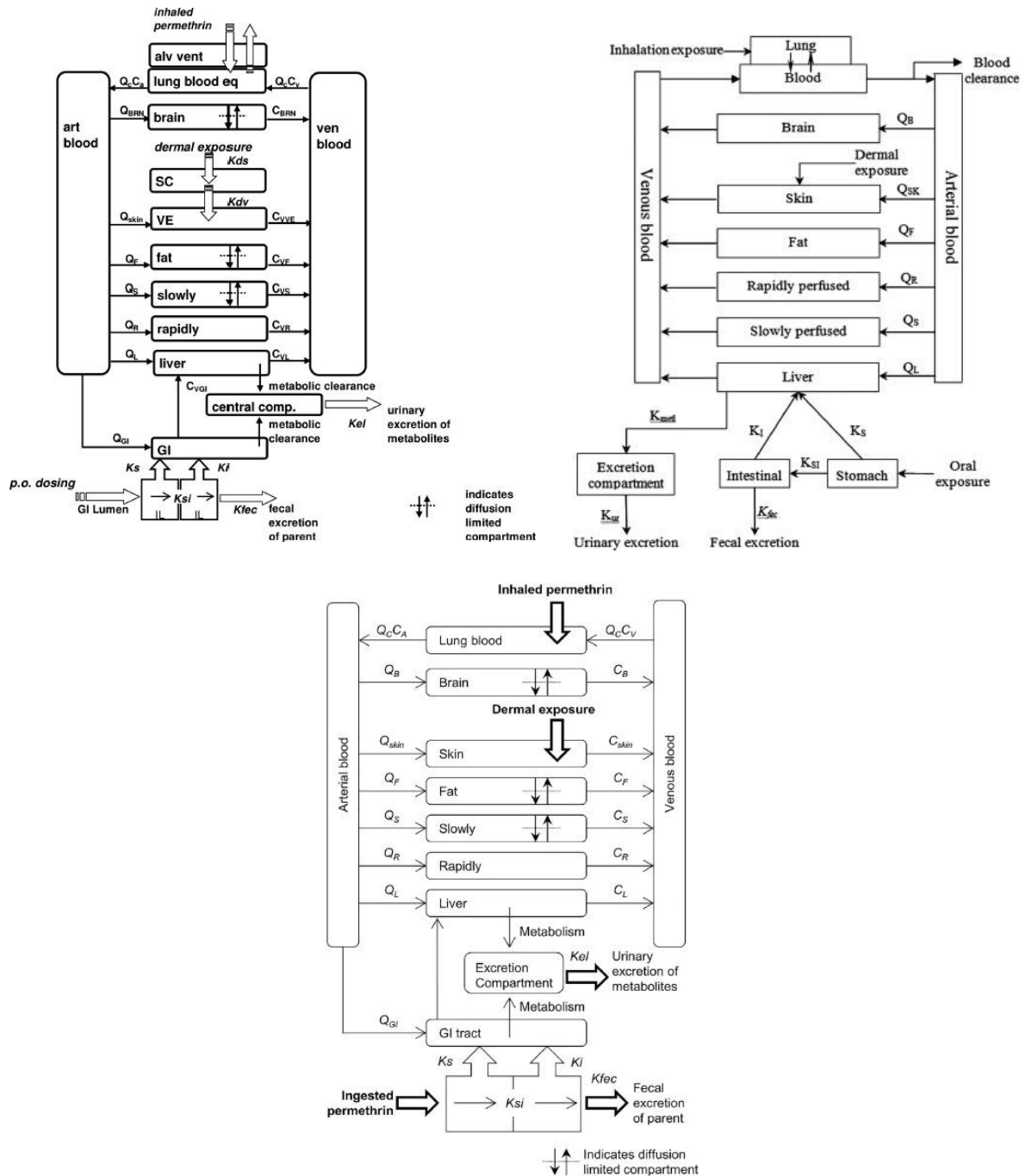


Figure 19 : Structures des modèles PBPK de la perméthrine développés par Tornero-Velez *et al.* (2012), Wei *et al.* (2013) et Darney *et al.* (2018).

Les modèles PBPK de Tornero-Velez *et al.* (2012) et Wei *et al.* (2013) ont été développés à la même époque et sont basés sur les modèles existants pour la deltaméthrine (Godin *et al.*, 2010; Mirfazaelian *et al.*, 2006). Le modèle de Tornero-Velez *et al.* (2012) décrit une structure à 7

compartiments (Figure 19) alors que Wei *et al.* (2013) décrit une structure à 6 compartiments (Figure 19). Cette différence tient dans l'absence de perfusion du compartiment gastro-intestinal pour Wei *et al.* (2013). Le modèle de Darney *et al.* (2018) (Figure 19) pour la *cis*-et *trans*-perméthrine apporte des modifications mineures au modèle développé par Tornero-Velez *et al.* (2012).

Ces trois modèles PBPK humains prennent en compte les trois voies d'exposition : l'ingestion orale, l'inhalation et le contact cutané. L'absorption orale est décrite par un sous-modèle à 2 compartiments représentant les lumières de l'estomac et de l'intestin. L'absorption cutanée est modélisée avec deux compartiments (couche cornée et épiderme viable) par Tornero-Velez *et al.* (2012) et avec un seul compartiment dans les modèles de Wei *et al.* (2013) et Darney *et al.* (2018). Tornero-Velez *et al.* (2012) modélise l'inhalation avec deux compartiments avec un flux d'air unidirectionnel dans la région d'échange gazeux correspondant au taux de ventilation alvéolaire et avec un équilibre rapide entre l'air pulmonaire et le sang pulmonaire. Wei *et al.* (2013) et Darney *et al.* (2018) ont simplifié l'équation en considérant que tout le composé inhalé est absorbé dans les poumons. La distribution de la perméthrine dans les organes et les tissus est limitée par le flux sanguin pour les compartiments du foie et des tissus rapidement perfusés, tandis qu'elle est limitée par la diffusion pour les compartiments du cerveau, des tissus adipeux et des tissus lentement perfusés (Darney *et al.*, 2018; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2013). Le métabolisme se produit dans les intestins pour la *trans*-perméthrine uniquement et dans le foie pour les deux isomères. Le métabolisme est modélisé avec un processus linéaire (Tornero-Velez *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2013) ou avec un processus saturable via l'équation de Michaelis-Menten (Darney *et al.*, 2018).

Pour l'extrapolation à l'humain, les valeurs des paramètres physiologiques de la littérature ont été utilisées (Brown *et al.*, 1997). Certains paramètres spécifiques à la perméthrine ont été définis en utilisant les mêmes valeurs que la deltaméthrine (constante d'absorption gastrique et intestinale, constante de transfert gastro-intestinal, certains coefficients de partage et de perméabilité, constante d'excrétion fécale). D'autres ont été adaptés en utilisant des données animales pour la perméthrine (certains coefficients de perméabilité et coefficients de partage). Les paramètres métaboliques ont été obtenus à partir d'études *in vitro* (Scollon *et al.*, 2009; Willemin *et al.*, 2015) ou par calibration avec des données humaines de toxicocinétique (Darney *et al.*, 2018).

Tornero-Velez *et al.* (2012) et Wei *et al.* (2013) ont évalué les prédictions de leurs modèles avec des données chez le rat. Wei *et al.* (2013) et Darney *et al.* (2018) ont effectué des analyses de sensibilité afin d'identifier les paramètres du modèle ayant l'impact le plus élevé sur les concentrations sanguines. Les paramètres les plus influents sont les paramètres d'absorption et d'excrétion, le coefficient de partage entre le foie et le sang et la clairance hépatique.

Tous les modèles PBPK présentés ci-dessus sont couplés avec un modèle pour au moins un métabolite : le *cis*- et *trans*-DCCA (Darney *et al.*, 2018; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Willemin *et al.*, 2016) ou le 3-PBA (Wei *et al.*, 2013; Willemin *et al.*, 2016). Des modèles simples à un compartiment ont été utilisés pour décrire la toxicocinétique des métabolites. Willemin *et al.* (2016) ont développé un modèle PBPK réduit pour le *cis*- et le *trans*-DCCA calibré à l'aide de concentrations mesurées dans le sang, le foie, l'urine et les fèces. Ce modèle comprend trois compartiments : le sang, le foie et le reste du corps (compartiment à diffusion limitée) (Willemin *et al.*, 2016).

Le couplage des modèles PBPK des composés parents avec les modèles des métabolites permettent ainsi de relier l'exposition externe par ingestion, inhalation et contact cutané avec les concentrations urinaires des métabolites. Tornero-Velez *et al.* (2012) et Darney *et al.* (2018) ont utilisé leurs modèles pour estimer les expositions globales de la population américaine et française alors que Wei *et al.* (2013) ont utilisé leur modèle pour estimer l'exposition des agents de bord lors de la désinfection des avions.

1.3.2.3. Cyperméthrine et métabolites

Comme la perméthrine, la formulation commerciale de cyperméthrine est un mélange d'isomères *cis* et *trans* avec des cinétiques différentes. Le composé et ses métabolites n'ont pas été beaucoup étudiés. Les études disponibles sont principalement chez l'humain. Les Figure 20 et Figure 21 présentent les structures chimiques de la *cis*-cyperméthrine et *trans*-cyperméthrine.

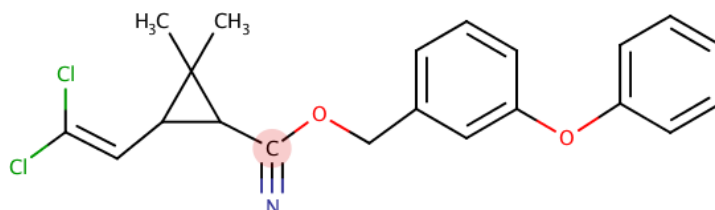


Figure 20 : Structure chimique de la *cis*-cyperméthrine.

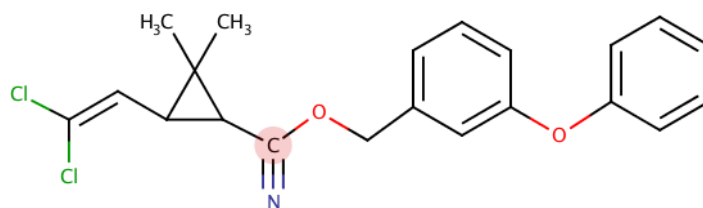


Figure 21 : Structure chimique de la *trans*-cyperméthrine.

1.3.2.3.1. Études expérimentales

Plusieurs études ont étudié la cinétique de la cyperméthrine chez l'humain *via* exposition orale (Eadsforth *et al.*, 1988; Eadsforth et Baldwin, 1983; Ratelle *et al.*, 2015b; Woollen *et al.*, 1992) et exposition cutanée (Eadsforth *et al.*, 1988; Woollen *et al.*, 1992).

Concernant l'exposition par voie orale, les doses administrées varient entre 0,25 et 8 mg. L'absorption est estimée entre 36 et 63 % de la dose orale administrée (Eadsforth *et al.*, 1988; Eadsforth et Baldwin, 1983; Ratelle *et al.*, 2015b; Woollen *et al.*, 1992). La demi-vie moyenne d'absorption des métabolites dans le plasma est estimée à 4 heures et celle des métabolites dans les urines à 3,5 heures (Ratelle *et al.*, 2015b). La concentration maximale est atteinte entre 8 et 24 heures post ingestion. La demi-vie d'élimination des métabolites dans le plasma se situe entre 5 et 16 heures et les métabolites dans les urines autour de 6 heures (Ratelle *et al.*, 2015b; Woollen *et al.*, 1992). Le 3-PBA est le métabolite pour laquelle les demi-vies d'absorption et d'élimination sont les plus importantes.

Concernant l'exposition cutanée, les quantités appliquées varient entre 25 et 31 mg. Sur la base de la récupération des métabolites urinaires de la cyperméthrine, entre 0,3 et 1,8 % de la dose appliquée est absorbée (Eadsforth *et al.*, 1988; Woollen *et al.*, 1992). La concentration maximale apparaît entre 12 et 36 heures après l'application. La quantité de métabolites provenant de 3-PBA et 4'-OH-PBA est 4 fois plus grande que celle provenant de la *cis*- et la *trans*-DCCA (Woollen *et al.*, 1992). La demi-vie d'élimination est estimée à 13 heures (Woollen *et al.*, 1992).

Chez le rat et comme pour les autres pyréthrinoïdes après exposition orale à la cyperméthrine, le composé est retrouvé dans les tissus riches en lipides tels que les tissus adipeux et le cerveau (Wielgomas et Krechniak, 2006).

1.3.2.3.2. Modèles PBPK publiés

Il n'existe pas de modèle PBPK pour la cyperméthrine. En revanche, un modèle multi-compartimental de toxicocinétique a été développé par Côté *et al.* (2014) pour prédire les quantités de cyperméthrine, ainsi que de ses métabolites dans le corps humain. Le modèle permet de prendre en compte une exposition orale et cutanée. Dans un premier temps, les données de Woollen *et al.* (1992) ont été utilisées pour la paramétrisation du modèle de Côté *et al.* 2014. Récemment, Côté et Bouchard (2017) ont utilisé la même structure de modèle mais les données de Ratelle *et al.* (2015b) ont été utilisées pour la paramétrisation du modèle pour l'exposition *via* voie orale et ceux de Woollen *et al.* (1992) pour l'exposition *via* contact cutané. Un algorithme a été établi pour déterminer les valeurs des paramètres les mieux ajustées par rapport aux données. Le modèle a été évalué et utilisé afin de reconstruire l'exposition de travailleurs à la cyperméthrine (Côté et Bouchard, 2017).

1.3.2.4. Cyfluthrine et métabolites

Comme la perméthrine et la cyperméthrine, la formulation commerciale de cyfluthrine est un mélange d'isomères *cis* et *trans* avec des cinétiques différentes. Le composé et ses métabolites ont été étudiés chez le rat après exposition orale et intraveineuse (Rodríguez *et al.*, 2018) et chez les humains après exposition orale (Leng *et al.*, 1997a) et inhalation (Leng *et al.*, 1997b). Les Figure 22 et Figure 23 présentent les structures chimiques de la *cis*-cyfluthrine et *trans*-cyfluthrine.

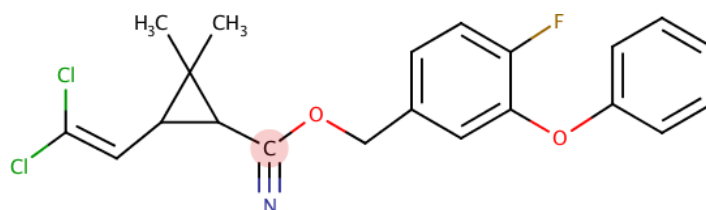


Figure 22 : Structure chimique de la *cis*-cyfluthrine.

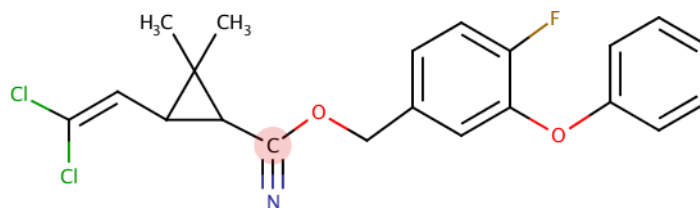


Figure 23 : Structure chimique de la *trans*-cyfluthrine.

1.3.2.4.1. Études expérimentales

Rodríguez *et al.* (2018) ont étudié la biodisponibilité de la cyfluthrine chez le rat après exposition orale (20 mg/kg poids corporel) et intra-veineuse (3 mg/kg poids corporel). L'absorption orale est estimée à 1,6 heures la biodisponibilité de 72 % et la concentration plasmatique maximale est atteinte à 3,4 heures (Rodríguez *et al.*, 2018). L'absorption de la cyfluthrine chez les travailleurs a été confirmée par la mesure des concentrations plasmatiques (Leng et Lewalter, 1999). L'exposition orale d'un seul volontaire a démontré une absorption de la cyfluthrine (0,03 mg/kg poids corporel) (Leng *et al.*, 1997a). Sur la base de la récupération des métabolites urinaires, l'absorption orale est estimée à 40 % (Leng *et al.*, 1997a).

De plus, une autre étude a exposé neuf volontaires à la cyfluthrine par inhalation. Il semble que le composé soit rapidement absorbé après l'inhalation, en raison de l'apparition de métabolites

urinaires dans les 30 minutes suivant l'exposition (Leng *et al.*, 1997b). Dans cette même étude, une augmentation de la quantité de métabolites urinaires était corrélée à une augmentation des niveaux d'exposition, ce qui indique que l'absorption par inhalation n'est pas limitée dans la gamme d'exposition étudiée (10-160 mg/m³).

L'étude de Rodríguez *et al.* (2018) montre que chez le rat la cyfluthrine pénètre rapidement dans le système nerveux central (environ 4 heures) et est détectée dans les tissus cérébraux.

Chez le rat, Rodríguez *et al.* (2018) ont montré que l'élimination du composé parent dans le plasma suit une diminution biphasique. Les demi-vies d'élimination après administration orale et intraveineuse sont respectivement de 17 et de 13 heures (Rodríguez *et al.*, 2018). Chez l'humain et après exposition orale, les demi-vies d'élimination sont environ de 6 heures pour le *cis*- et le *trans*-DCCA et le F-PBA (Leng *et al.*, 1997a). Le même ordre de grandeur de demi-vie d'élimination est retrouvé suite à exposition par inhalation (Leng *et al.*, 1997b).

1.3.2.4.2. Modèles PBPK publiés

Il n'existe actuellement pas de modèle PBPK pour la cyfluthrine.

1.3.2.5. Bilan

Au regard de la littérature actuelle, des modèles PBPK ont été développés uniquement pour la perméthrine et la deltaméthrine. Les données *in vivo* animales de Tornero-Velez *et al.* (2012) et Willemin *et al.* (2016) ont permis d'obtenir des valeurs de paramètres pour les isomères de la perméthrine (coefficients de partage et de perméabilité, paramètres d'absorption et d'excrétion). Deux études *in vitro* isomères dépendantes permettent d'obtenir des valeurs de métabolisme humain soit avec des hépatocytes (Willemin *et al.*, 2015), soit avec des microsomes hépatiques (Scollon *et al.*, 2009). Pour la cyperméthrine et la cyfluthrine, il n'existe pas de données *in vivo* dans la littérature. Un modèle QSAR est disponible pour estimer les coefficients (Knaak *et al.*, 2012). Une étude *in vitro* sur microsomes hépatiques humains permet d'obtenir des valeurs de métabolisme (Scollon *et al.*, 2009). Le composé étudié n'est pas la cyfluthrine mais la β -cyfluthrine qui est une forme enrichie en isomères de deux couples de diastéréoisomères biologiquement actif de la cyfluthrine (Scollon *et al.*, 2009). Que ce soit le modèle QSAR ou l'étude *in vitro*, les données disponibles ne permettent pas de faire la différence entre les isomères de ces deux composés. Enfin, deux études *in vivo* animales sont disponibles pour la paramétrisation d'un modèle PBPK pour la deltaméthrine (Godin *et al.*, 2010; Mirfazaelian *et al.*, 2006). Une étude *in vitro* sur microsomes hépatiques humains est disponible pour le métabolisme hépatique (Godin *et al.*, 2006).

Des études humaines sont disponibles pour la paramétrisation des modèles pour les métabolites et l'évaluation des prédictions des modèles. Pour la perméthrine, deux études par exposition orale (une contrôlée et une suite à intoxication) permettent d'obtenir des mesures de la perméthrine dans le sang (Gotoh *et al.*, 1998) et des métabolites dans les urines (Ratelle *et al.*, 2015a). Une autre étude, suite à une exposition par contact cutanée, a mesuré les métabolites dans les urines (Tomalik-Scharte *et al.*, 2005). Pour la cyperméthrine, deux études par exposition orale et une par contact cutané ont mesuré les métabolites dans les urines (Ratelle *et al.*, 2015b; Woollen *et al.*, 1992). Pour la cyfluthrine, une étude par exposition orale et une par inhalation ont mesuré les métabolites dans les urines (Leng *et al.*, 1997b, 1997a). Enfin, il n'existe qu'une seule étude par exposition orale chez l'humain pour la deltaméthrine où les métabolites sont mesurés les urines (Sams et Jones, 2012).

D'autre part, plusieurs études montrent qu'une structure commune peut être envisageable pour l'ensemble des pyréthrinoïdes (Darney *et al.*, 2018; Godin *et al.*, 2010; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2013).

1.4. Utilisation des modèles PBPK des pyréthrinoïdes dans le cadre de l'évaluation de l'exposition

Comme discutée dans la partie précédente, la modélisation toxicocinétique permet de faire le lien entre l'exposition externe et interne. L'estimation de l'exposition aux substances chimiques via l'utilisation de la modélisation toxicocinétique peut être effectuée selon deux approches :

- L'approche de dosimétrie *forward* : une estimation des expositions internes à partir des mesures de l'exposition externe,
- L'approche de dosimétrie inverse : une estimation des expositions environnementales compatible avec les données de surveillance biologique mesurées.

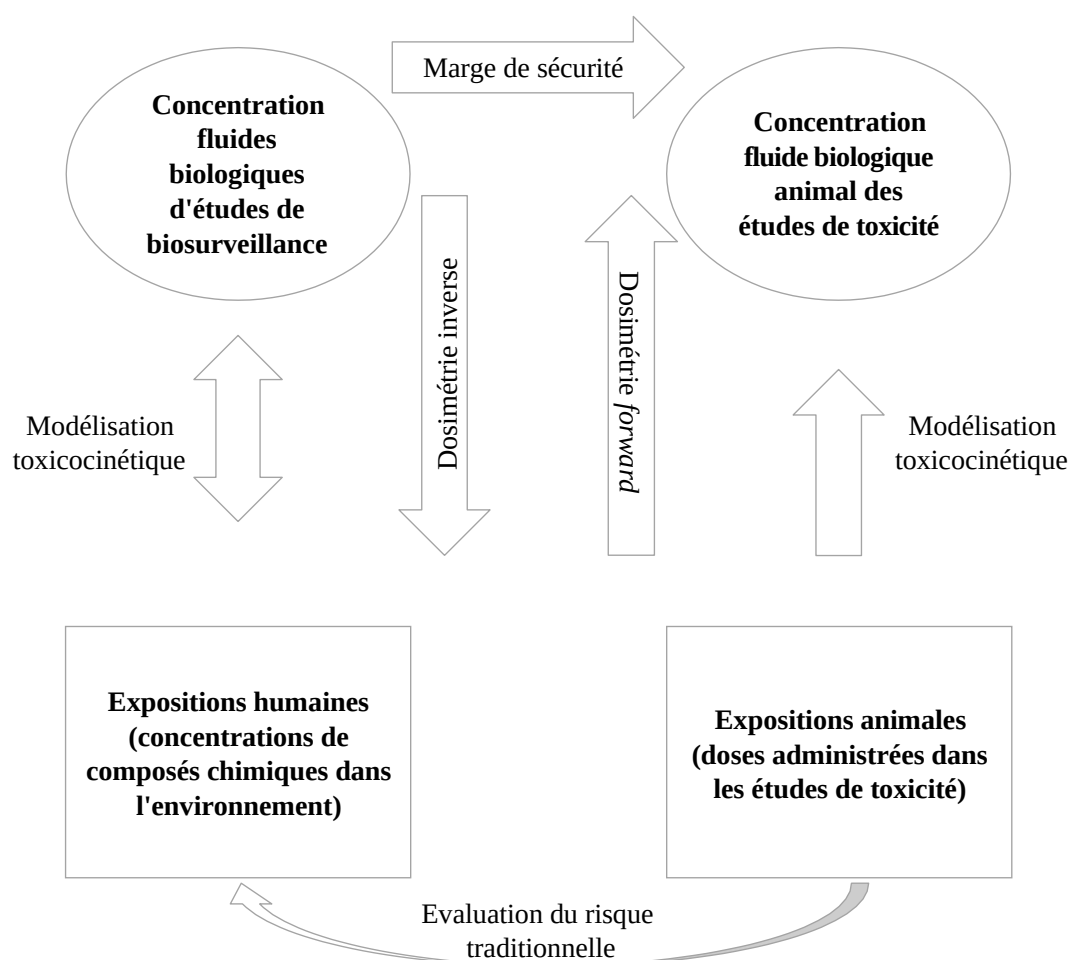


Figure 24 : Représentation graphique de l'utilisation de la modélisation PBPK en évaluation du risque. Adapté de Clewell et al. (2008).

La Figure 24 présente la relation entre les données de biosurveillance humaine et les données de toxicité sur les animaux. Les données de biosurveillance humaine fournissent une mesure de

l'exposition interne. L'évaluation du risque traditionnelle repose sur des mesures de l'exposition externe. Les études toxicocinétiques chez l'animal peuvent permettre une comparaison directe des expositions internes, fournissant une marge de sécurité. Alternativement, la dosimétrie inverse peut être réalisée pour estimer l'exposition externe chez l'humain et comparer avec une valeur de référence basée sur l'animal. Chacune de ces approches nécessite l'utilisation de la modélisation toxicocinétique et présente des avantages, des inconvénients et des objectifs différents. Seront discutés dans cette partie les méthodologies employées dans ces deux approches ainsi que les travaux réalisés spécifiquement pour les pyréthréinoïdes.

1.4.1. Méthodologie

1.4.1.1. Dosimétrie forward

La dose externe calculée ne permet pas de faire directement le lien entre l'exposition et la dose absorbée responsable de la toxicité de la substance chimique. Lorsque des données de toxicocinétique sont disponibles, la dose absorbée peut être calculée (US EPA, 2006). Afin de faire le lien entre la dose externe et la dose interne d'exposition, il est nécessaire de disposer de données toxicocinétiques afin de calculer la concentration de la substance chimique dans le sang, les urines ou la quantité totale dans l'air alvéolaire par exemple (J. Paustenbach, 2000). Les modèles PBPK offrent un moyen de faire ce lien ; c'est l'approche par dosimétrie *forward*.

Les modèles PBPK peuvent être utilisés conjointement avec un modèle d'exposition pour améliorer la caractérisation quantitative de l'évaluation du risque. Plusieurs exemples dans la littérature ont démontré l'intérêt de coupler ces deux modèles : i) identifier et évaluer la relation entre une dose externe et des données de biosurveillance ou des biomarqueurs (Csanády *et al.*, 1996; Fennell *et al.*, 1992; Krishnan *et al.*, 1992; Timchalk *et al.*, 2001), ii) établir des indices d'exposition biologique (par exemple, respiration, concentrations sanguines ou respiratoires) afin de protéger les travailleurs (Droz *et al.*, 1999; Kumagai et Matsunaga, 1995; Leung, 1992; Perbellini *et al.*, 1990; Thomas *et al.*, 1996), iii) fournir des estimations de la dose dans les tissus internes résultant d'expositions à plusieurs voies d'expositions (exposition agrégée) ou plusieurs substances chimiques (expositions cumulatives) (Corley *et al.*, 2000; Georgopoulos *et al.*, 1994; Rao et Ginsberg, 1997; Roy *et al.*, 1996). Un scénario d'exposition réaliste pour une population peut permettre de comparer les prédictions du modèle avec des données de biosurveillance si elles sont disponibles comme par exemple la mesure de la substance chimique/métabolite dans le sang ou les urines de cette population.

La dosimétrie *forward* est possible selon deux approches : i) l'approche déterministe qui utilise des valeurs moyennes des paramètres pour estimer une sortie moyenne, ii) l'approche probabiliste qui utilise des distributions pour les valeurs des paramètres et en résulte une distribution de densité de la sortie (Figure 25).

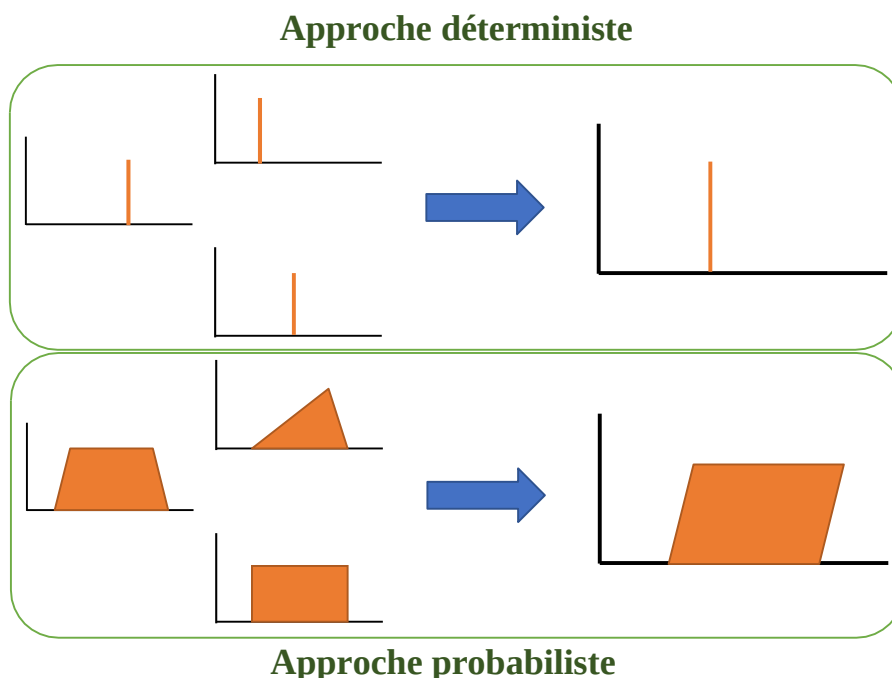


Figure 25 : Présentation schématique de l'approche déterministe et probabiliste.

Chaque paramètre d'un modèle comprend de la variabilité et de l'incertitude (NRC, 1994, 1983). La variabilité est définie comme étant la variation naturelle d'un phénomène, tandis que l'incertitude réfère au degré de précision de la connaissance actuelle sur un phénomène (NRC, 1994, 1983). La propagation de l'incertitude et de la variabilité sur les valeurs de paramètres peut être simulée par des méthodes Monte Carlo afin de quantifier leur impact sur les sorties prédites. Les méthodes Monte Carlo permettent d'échantillonner pour chaque paramètre une distribution de probabilité reflétant le degré de connaissance actuel ou sa variabilité. Pour chaque valeur échantillonnée, le modèle simule une sortie. Des tirages aléatoires sont réalisés dans les distributions des paramètres et une densité de probabilité est estimée pour la sortie du modèle.

L'incertitude et la variabilité peuvent être propagées à la fois pour le modèle d'exposition mais aussi pour le modèle PBPK. Les simulations Monte Carlo permettent à la fois de quantifier l'impact de la variabilité et l'incertitude propre au modèle et scénario d'exposition mais aussi

d'intégrer celui propre aux paramètres du modèle PBPK. Le résultat obtenu est une distribution des sorties du modèle plutôt qu'une estimation moyenne. Ces méthodes permettent donc de ne plus raisonner sur une valeur mais sur des distributions et ainsi de détecter si des valeurs de paramètres pourraient conduire à une augmentation significative du risque lié à l'exposition à une substance pour certains individus comme par exemple le 95^{ème} percentile des sorties du modèle PBPK. La Figure 26 représente graphiquement la propagation de l'incertitude et de la variabilité entre les données, les doses/concentrations calculées à partir de ses données et les doses internes. De plus en plus d'études de dosimétrie *forward* prennent en compte l'incertitude et la variabilité (Gentry *et al.*, 2017; Strikwold *et al.*, 2017). Les simulations Monte Carlo font partie des recommandations pour l'application de la modélisation PBPK dans le cadre de l'évaluation des risques défini par l'OMS (OMS/IPCS, 2010). Certains logiciels sont capables de coupler des modèles d'exposition avec des modèles toxicocinétiques/PBPK plus ou moins complexes comme par exemple MERLIN-Expo, INTEGRA ou SHEDS. Le calcul de l'exposition externe peut alors être mise en lien avec des doses internes.

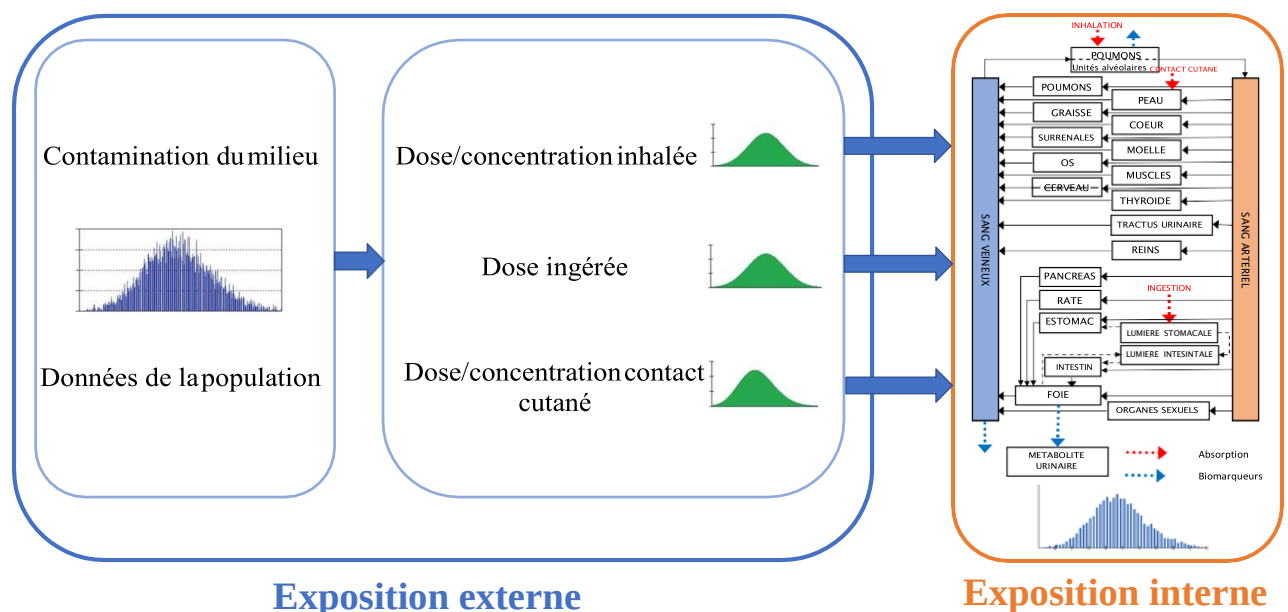


Figure 26 : Continuum de l'évaluation de l'exposition externe à l'exposition interne.

1.4.1.2. Dosimétrie inverse

Une autre approche est possible pour faire le lien entre exposition externe et interne ; la dosimétrie inverse. La dosimétrie inverse permet, à partir de données de biosurveillance individuelles, de reconstruire l'exposition compatible avec ces données (Clewell *et al.*, 2008). Il existe de nombreux exemples dans la littérature d'application de dosimétrie inverse avec des

modèles toxicocinétiques pour des composés persistants (Aylward *et al.*, 2005; Lorber, 2002) et non persistants (Bouchard *et al.*, 2005; Tan *et al.*, 2007). Cette approche est d'autant plus intéressante dans le cadre de l'évaluation du risque puisque les valeurs de référence pour la santé humaine pour des niveaux acceptables des substances chimiques, telles que les doses de référence (US EPA, 2014) ou les doses journalières tolérables (OMS, 1987) sont basées sur des doses externes d'exposition. La fiabilité des estimations d'exposition/de dose issues de la dosimétrie inverse dépend de la précision de la relation dose-biomarqueur décrite par le modèle PBPK, de la quantité d'informations sur les scénarios d'exposition et de leur variabilité, ainsi que de la capacité à caractériser des échantillons de biomarqueurs et la conception de l'étude (par exemple le moment de l'échantillonnage). Plusieurs approches de dosimétrie inverse ont été développées pour reconstituer les expositions à partir de données de biomarqueurs comme le Facteur de Conversion d'Exposition (FCE) ou l'approche bayésienne par Monte Carlo par Chaînes de Markov (MCMC).

Le FCE est une méthode simple pour convertir les distributions de concentrations de biomarqueurs en distributions d'exposition en supposant que la relation dose-biomarqueur est linéaire dans la plage des concentrations de biomarqueurs observées. Pour utiliser cette approche, une simulation de dosimétrie à une seule concentration d'exposition est nécessaire. La distribution résultante (due à la variation modélisée d'une physiologie à l'échelle de la population) des concentrations de biomarqueurs est utilisée pour extrapoler les concentrations d'exposition susceptibles de générer les concentrations de biomarqueurs mesurées. La méthode FCE n'est applicable que lorsque la relation dose-biomarqueur est supposée linéaire. Lorsque celle-ci n'est pas vérifiée, une approche statistique plus sophistiquée est nécessaire.

Une approche bayésienne considère la dose externe non pas comme une valeur unique mais comme une distribution de probabilité. On attribue à la dose externe (C_{ext}) une distribution de probabilité *a priori* représentant la connaissance de C_{ext} avant la prise en compte des données de concentration tissulaire ou de matrice biologique (C_{int}). La distribution *a priori* est estimée via le théorème de Bayes en une distribution de probabilité *a posteriori* pour les C_{ext} conditionnés par les données C_{int} . Le théorème de Bayes peut-être écrit comme :

$$p(C_{ext}|C_{int}) \propto p(C_{int}|C_{ext})p(C_{ext})$$

où $p(C_{ext})$ est la prior, $p(C_{int}|C_{ext})$ est la probabilité et $p(C_{ext}|C_{int})$ est la postérieure. La vraisemblance $p(C_{int}|C_{ext})$ est la distribution conditionnelle en fonction de $p(C_{ext})$ et dont la forme fonctionnelle est basée sur la spécification d'un modèle de mesure décrivant la différence

entre l'observation et la prédiction de modèle en termes d'erreur. La distribution de probabilité *a posteriori* représente donc le résultat de la distribution *a priori* en prenant en compte les informations des données C_{int} . Lorsque les informations sont disponibles, les connaissances concernant la physiologie et l'interprétation biologique peuvent être utilisées pour définir des distributions informatives *a priori*.

Dans la plupart des cas, la distribution *a posteriori* est estimée *via* une simulation MCMC pour l'analyse bayésienne (Gelman *et al.*, 2014). La simulation MCMC fait référence à une classe de simulations itératives dans lesquelles les variables aléatoires d'intérêt sont tirées d'une séquence, ou d'une chaîne, de distributions qui convergent finalement vers une distribution postérieure stable. Ces chaînes peuvent être déterminées par des algorithmes d'échantillonnage de rejet dans lesquels un tirage au sort est accepté ou rejeté sur la base d'une règle probabiliste comme par exemple l'algorithme de Metropolis-Hastings (Hastings, 1970). La convergence peut être évaluée en exécutant plusieurs chaînes et en comparant la variance au sein et entre les séquences *via* un facteur de réduction d'échelle potentielle $\hat{R}$ (Gelman *et al.*, 2014). Une fois la convergence obtenue (par exemple, $\hat{R} > 1,2$), les chaînes peuvent être agrégées et considérées comme un échantillon à partir d'une approximation discrète de la distribution postérieure.

La dosimétrie inverse permet d'analyser et de comparer différents scénarios, différentes données sans contraintes informatiques ou numériques excessives. Il est aussi possible de tester si davantage de données ou d'autres types de données qui pourraient améliorer les reconstructions d'exposition. Par exemple, il est possible de tester si de meilleures informations sur l'exposition ou la toxicocinétique de la substance étudiée pourraient améliorer la fiabilité de la reconstruction de l'exposition. D'autre part, en fonction des propriétés du biomarqueur certaines contraintes peuvent s'ajouter. Il est important de prendre en compte la persistance du biomarqueur lors de la reconstruction de l'exposition. Les composés persistants sont ceux pour lesquels il devrait être le plus simple d'utiliser la dosimétrie inverse (Clewell et Clewell, 2008). Leurs longues demi-vies ont tendance à atténuer les variations quotidiennes d'exposition, de sorte que la concentration de biomarqueurs mesurée est susceptible de refléter des expositions chroniques. De par leur nature, les composés persistants ont tendance à être lentement métabolisés et excrétés ce qui a pour conséquence que les données de biosurveillance sont généralement des concentrations du composé parent dans le sang plutôt que des métabolites.

Pour les composés non-persistants, où les demi-vies sont de l'ordre de quelques heures, les concentrations de biomarqueurs mesurées reflètent des expositions récentes. Cette courte demi-

vie est particulièrement problématique pour les expositions fortement dépendantes du temps (Clewell et Clewell, 2008). Par exemple, dans le cas d'une exposition unique par inhalation à un composé volatil, plusieurs scénarios d'exposition peuvent être établis pour atteindre la même concentration sanguine ou dans l'air expiré à un moment donné : i) une exposition de courte durée à une concentration élevée, ii) une exposition longue à une faible concentration, iii) des expositions multiples de courte durée (Sohn *et al.*, 2004). Dans certains cas d'autres informations peuvent être disponibles pour diminuer cette contrainte comme la connaissance du début et de la durée de l'exposition ou encore le moment de l'échantillonnage par rapport à l'exposition. Toutefois, il semble relativement difficile de reconstituer l'exposition à l'échelle de l'individu avec confiance, car un seul échantillon de biosurveillance présente une relation temporelle inconnue avec l'exposition. L'utilisation des modèles PBPK pour interpréter les données de biomarqueurs peut être limitée par le caractère non unique des solutions inverses. En effet, la variabilité des expositions et des scénarios possibles ainsi que la toxicocinétique peuvent entraîner plusieurs solutions aux simulations de dosimétrie inverse (Sohn *et al.*, 2004). Une approche pour faire face à cet obstacle consiste à utiliser une approche probabiliste. Plutôt que d'essayer d'identifier l'exposition spécifique produisant la valeur de biomarqueur d'un individu, cette approche fournit une distribution des expositions en lien avec le biomarqueur mesuré. Dans le cas de composés non persistants, il est également nécessaire de traiter de la variabilité du scénario d'exposition et de sa relation avec le moment de l'échantillonnage.

1.4.2. Application aux pyréthrinoïdes

Les modèles développés chez l'humain ont aussi été utilisés dans un cadre d'évaluation de risque, à la fois en dosimétrie *forward* et inverse. Tornero-Velez *et al.* (2012), Wei *et al.* (2013) et Darney *et al.* (2018) ont effectué ce type d'estimation en utilisant un modèle PBPK pour la perméthrine.

Tornero-Velez *et al.* (2012) ont d'abord estimé une exposition externe *via* les voies orale, inhalation et contact cutané probabiliste à la perméthrine en utilisant le logiciel SHEDS pour les adultes, les adolescents et les enfants. Les expositions résidentielles et alimentaires à la perméthrine ont été simulées pour 8994 personnes de 6 ans et plus. Pour chaque personne, des expositions heure par heure ont été simulées pendant 21 jours. Les niveaux d'exposition estimés *via* les trois voies ne sont pas rapportés dans l'article. Les estimations ont ensuite été utilisées comme données d'entrée du modèle PBPK. Les paramètres du modèle PBPK sont les mêmes

pour les adolescents et les enfants que ceux utilisés pour les adultes. L'évaluation du modèle a été réalisée en comparant les 75^{ème}, 90^{ème} et 95^{ème} percentiles du *cis*- et *trans*-DCCA estimés par le modèle PBPK pour les trois catégories d'âge avec les données de biosurveillance NHANES de 1999-2000 et 2001-2002. La comparaison des résultats avec les données de biosurveillance NHANES montre que les estimations sont relativement bien prédites lorsque les intervalles de confiance sont pris en compte. Les auteurs notent qu'une exposition plus élevée chez les enfants pourrait être attribuée à une absorption plus importante de poussière liée à un comportement main-bouche. Malgré les bonnes prédictions par rapport aux données NHANES, les concentrations urinaires en *cis*- et *trans*-DCCA peuvent être sous-estimées puisque l'étude ne prend pas en compte l'apport des autres composés parents pouvant former ces métabolites comme la cyfluthrine et cyperméthrine qui sont autorisées aux États-Unis.

Darney *et al.* (2018) ont estimé les concentrations urinaires en *cis*- et *trans*-DCCA compatibles avec une exposition réaliste des français (hommes et femmes adultes) à la perméthrine. L'étude d'Hermant *et al.* (2018) pour l'ingestion indirecte, l'inhalation et le contact cutané ainsi que les données des enquêtes de contrôle de la contamination et de surveillance des aliments français couplées avec les données de consommation de l'étude ENNS ont permis d'estimer trois scénarios d'exposition agrégée à la perméthrine. La différence entre les trois scénarios réside dans le traitement des données censurées pour l'alimentaire. Les simulations pour les trois scénarios ont été comparées avec les données de biosurveillance de l'étude ENNS. Les niveaux estimés par le modèle PBPK pour le *cis*- et le *trans*-DCCA semblent se trouver entre les scénarios « inférieur » et « intermédiaire ». Dans le scénario « inférieur », les données censurées sont considérées comme nulles tandis que le scénario « intermédiaire » considère les données censurées comme la médiane des valeurs échantillonnées entre zéro et la limite de détection ou quantification. En 2000, la réglementation européenne a classé la perméthrine en tant que substance active non approuvée pour un usage agricole. La contamination des aliments devrait donc se rapprocher de l'hypothèse formulée dans le scénario « inférieur » qui semble plus réaliste. La contribution des différentes sources et voies d'exposition a aussi été investiguée. Pour les trois scénarios, la voie la plus importante d'exposition à la perméthrine est la voie orale, avec une contribution de 98 % à 100 %. La deuxième voie est la voie cutanée, qui contribue de 0,03 % à 1,51 %. Enfin, la dernière voie est la voie d'inhalation, qui contribue de 0,004 à 0,49 %. Compte tenu des sources d'exposition à la perméthrine, La principale source d'exposition est l'alimentation, qui contribue pour 86,7 % à 99,8 %, suivie de la poussière (voies orale et cutanée), qui représente 0,23 % à 12,8 % de l'exposition à la perméthrine. La

dernière source est l'air, qui contribue de 0,004 % à 0,74 % selon les différents scénarios d'exposition et semble donc être une source d'exposition négligeable. Cependant, la sous-estimation de l'exposition par le modèle PBPK peut avoir d'autres causes. Comme pour l'étude de Tornado-Velez *et al.* (2012), seule la perméthrine est considérée dans la formation de la DCCA alors que la cyperméthrine et la cyfluthrine peuvent aussi en former. De plus, ces deux composés sont autorisés en Europe et notamment à usage agricole. En outre, l'auteur rapporte qu'en raison du manque de données, certaines situations d'exposition environnementale n'ont pas été prises en compte dans l'élaboration de scénarios. C'est notamment le cas de certains déterminants mis en évidence dans les résultats de l'étude ENNS mais pour lesquels les auteurs ne disposaient pas d'informations afin de construire des scénarios robustes sur l'utilisation des pesticides (plantes d'intérieur ou animaux domestiques, l'exposition professionnelle, *etc.*) ou les environnements extérieurs (traitement des jardins de fleurs ou de potagers, *etc.*). Enfin, dans une moindre mesure, les scénarios ne tiennent pas compte de la présence probable de DCCA dans l'environnement ou dans les aliments.

Wei *et al.* (2013) ont évalué l'exposition des agents de bord d'avion à la perméthrine lors de la désinsectisation de l'avion (pulvérisation avant vol et traitement résiduel). Les concentrations urinaires en 3-PBA ont été comparées aux prédictions du modèle suite à une exposition par exposition orale, cutanée et inhalation. Les concentrations urinaires prédites de 3-PBA et les concentrations urinaires mesurées des agents de bord après le vol et dans les 24 heures suivantes présentent des centiles comparables. Des difficultés persistent pour les valeurs maximales puisque les valeurs prédites sont presque 2 à 3 fois supérieures aux valeurs mesurées. Les auteurs expliquent que cette différence peut être liée à la variabilité potentielle qui n'est pas prise en compte dans l'échantillon de taille limitée des agents de bord mais qui est prédite à l'aide de la simulation Monte Carlo de 50 000 itérations. Cette surestimation peut aussi provenir d'une surestimation potentielle des valeurs des paramètres du modèle d'exposition comme le contact main-bouche. Dans le scénario de traitement résiduel, la voie d'exposition cutanée est la voie d'exposition majoritaire (84 %) suivie de la voie orale (16 %) ce qui suggère une ingestion non intentionnelle de perméthrine. La contribution de la voie d'exposition par inhalation est très faible pour ce scénario (> 1%). Les résultats du scénario pré-pulvérisation montrent que l'inhalation est la voie d'exposition qui contribue le plus à la concentration urinaire du 3-PBA (88 %) suivie de la voie cutanée (7 %) et enfin la contribution orale (5 %). Une limite à cette étude est que seule la perméthrine a été prise en compte alors que l'exposition,

notamment par l'ingestion d'aliments contaminés, par d'autres composés pyréthrinoïdes formant le 3-PBA est possible.

Enfin, Côté et Bouchard (2017) ont utilisé un modèle toxicocinétique pour la perméthrine et la cyperméthrine pour reconstruire l'exposition de travailleurs exposés *via* inhalation, ingestion et contact cutané. Ils ont utilisé l'excrétion urinaire de 3-PBA, *cis*- et *trans*-DCCA ainsi que les informations disponibles dans les questionnaires (conditions et temps d'exposition, alimentation) pour estimer les doses de perméthrine et de cyperméthrine ingérées. Les différents scénarios testés montrent que les concentrations urinaires chez les travailleurs sont les mieux prédites lorsque les 3 voies d'exposition sont prises en compte. Les doses absorbées reconstruites chez les travailleurs étaient toutes inférieures aux doses de référence orale établies par l'US EPA pour la cyperméthrine et la perméthrine. Des incertitudes persistent quant à l'aspect non physiologique du modèle, sur la petite taille de l'échantillon utilisé pour paramétrer le modèle et l'utilisation des réponses aux questionnaires pour la reconstruction de l'exposition.

Objectifs

En France, des études de biosurveillance ont montré que la population adulte est exposée à des niveaux plus élevés que les populations allemandes ou nord-américaines. Afin d'interpréter les niveaux retrouvés lors des études de biosurveillance il est donc nécessaire de développer des outils permettant de prendre en compte cette caractéristique.

La modélisation toxicocinétique a été largement appliquée au cours des 35 dernières années pour une grande variété de composés afin de décrire la relation entre les mesures d'exposition externes et internes. À ce jour, les modèles toxicocinétiques ont été principalement utilisés pour estimer la dose dans les tissus par rapport à la dose administrée (c'est-à-dire la dosimétrie *forward*). Mais ces modèles peuvent également être utilisés en dosimétrie inverse pour reconstruire les expositions à partir de données de biosurveillance. Des modèles toxicocinétique pour des pyréthrinoïdes ont été développés chez l'humain afin de relier l'exposition externe aux concentrations de métabolites urinaires. Ces modèles peuvent être multi-compartimentaux (Côté *et al.*, 2014) ou des modèles PBPK (Darney *et al.*, 2018; Godin *et al.*, 2010; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2013). Les modèles PBPK pour la perméthrine ont été développés pour prédire les concentrations des métabolites urinaires à l'aide de scénarios d'exposition comprenant plusieurs voies d'exposition. Par exemple, Tornero-Velez *et al.* (2012) et Darney *et al.* (2018) ont appliqué leur modèle PBPK pour la perméthrine pour prédire les concentrations urinaires du métabolite de DCCA dans les populations américaine et française et ont comparé les prévisions aux données de biosurveillance. De même, Wei *et al.* (2013) ont évalué l'exposition des agents de bord à la perméthrine. Ces travaux de modélisation ont étudié le lien entre l'exposition à un pyréthrinoïde (ou une combinaison d'isomères d'un pyréthrinoïde) et la concentration urinaire d'un seul métabolite. L'interprétation des concentrations urinaires de métabolites communs mesurés dans des populations nécessite d'aller plus loin pour rendre compte de l'exposition cumulée à plusieurs composés de pyréthrinoïdes ainsi que de l'exposition globale des différentes voies. Une revue de la littérature a permis d'identifier des études *in vivo* humaine et animale, *in vitro* et *in silico* afin de pouvoir construire un modèle PBPK global pour quatre composés pyréthrinoïdes d'intérêt.

Un autre moyen d'utiliser les données de biosurveillance humaine pour l'évaluation du risque consiste à comparer les niveaux de biosurveillance humaine à une valeur respective en

équivalent de biosurveillance (BE). Aylward *et al.* (2018) ont développé un BE pour le 3-PBA et les résultats pour la population française montrent que 15 % des concentrations sont supérieures à la valeur de sélection conservatrice. Par conséquent, l'estimation de l'exposition externe devrait fournir des résultats plus réalistes de l'évaluation de risque afin d'interpréter les données de biosurveillance humaine. Dans ce contexte, l'approche par dosimétrie inverse appliquée à la population ENNS peut fournir un cadre plus complet pour l'interprétation de données de biosurveillance humaine.

Nous proposons ainsi de :

- Développer un modèle PBPK global pour relier l'exposition externe de quatre pyréthrinoïdes (perméthrine, cyperméthrine, cyfluthrine et deltaméthrine) et de leurs isomères aux concentrations urinaires de métabolites (*cis*- et *trans*-DCCA, 3-PBA, F-PBA et DBCA) permettant de simuler les expositions cumulées agrégées par des voies multiples (inhalation, ingestion et contact cutané).
- Utiliser l'approche de dosimétrie *forward* pour prédire les concentrations des métabolites urinaires à partir de données d'exposition externe réaliste et comparer les résultats avec les mesures de concentrations de l'enquête de biosurveillance française ENNS.
- Utiliser l'approche par dosimétrie inverse pour estimer la dose d'exposition orale à partir de mesures des concentrations des métabolites urinaires de l'enquête de biosurveillance ENNS.

Estimation des expositions cumulées des humains aux pyréthrinoïdes par un modèle PBPK global multivoies : application à la population française

Publié dans *Toxicology Letters* (2019) **312**, 125-138

Les pyréthrinoïdes sont des insecticides omniprésents utilisés dans de nombreux domaines tels que l'agriculture et la médecine humaine ou vétérinaire. Les biomarqueurs humains sont généralement les concentrations urinaires de métabolites. L'interprétation de ces biomarqueurs pour évaluer l'exposition environnementale de populations à un composé spécifique peut être difficile, car les pyréthrinoïdes partagent des voies métaboliques et des métabolites communs. Dans ce travail, nous proposons de développer un modèle toxicocinétique global reliant l'exposition externe à quatre pyréthrinoïdes fréquemment utilisés et à leurs isomères (*cis*- et *trans*-perméthrine, *cis*- et *trans*-cyperméthrine, *cis*- et *trans*-cyfluthrine et deltaméthrine) aux concentrations urinaires de métabolites (*cis*- et *trans*-DCCA, 3-PBA, F PBA et DBCA). Ce modèle global comprend des modèles pharmacocinétiques à base physiologique (*Physiologically Based Pharmacokinetic* – PBPK) pour chaque composé parent et des modèles à un compartiment pour les métabolites.

Les données existantes *in vivo*, *in vitro* et *in silico* ont été utilisées pour la calibration du modèle. Les données toxicocinétiques humaines ont été utilisées pour évaluer les prédictions du modèle. Plusieurs scénarios ont été testés : différentes voies d'exposition (orale, cutanée et par inhalation) et matrices biologiques (sang, urine). Dans l'ensemble, le modèle PBPK global a bien reproduit les données, environ 90 % d'entre elles se situant dans l'intervalle d'erreur d'un facteur 3. Pour l'inhalation, la prédictibilité est meilleure avec presque toutes les prédictions dans l'intervalle du facteur 2 (96 %), mais une seule étude était disponible pour la cyfluthrine. La voie cutanée est la seule voie dont les prédictions se situent au-delà de l'intervalle de facteur 10 (11 %). Une analyse de sensibilité en deux étapes a montré que les paramètres les plus déterminants pour les concentrations de métabolites urinaires étaient la partie du métabolisme du composé parent transformé en l'un des métabolites.

Le modèle PBPK global a ensuite été utilisé pour estimer la concentration en métabolites urinaires après une exposition cumulée et agrégée aux pyréthrinoïdes. Des scénarios d'exposition réalistes ont été élaborés à partir de données de contamination des aliments, des

poussières et de l'air intérieur et extérieur. Les résultats ont été comparés aux données de biosurveillance de la population française (étude ENNS) et concordaient. Le modèle PBPK global est un outil qui améliorera l'interprétation des données de biosurveillance des pyréthrinoïdes.

Estimating the cumulative human exposures to pyrethroids by combined multi-route PBPK models: Application to the French population

Paul Quindroit, Rémy Beaudouin, Céline Brochot

Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS), Unité Modèles pour l'Ecotoxicologie et la Toxicologie (METO), Parc ALATA BP2, 60550 Verneuil en Halatte, France

Abstract

Human biomarkers of exposure to pyrethroid insecticides are usually urinary concentrations of metabolites that can be specific to a pyrethroid or common to several compounds. We developed a global toxicokinetic model that links the external exposure to four widely-used pyrethroids and their isomers (deltamethrin and *cis* and *trans* isomers of permethrin, cypermethrin, and cyfluthrin) to the urinary concentrations of metabolites (*cis*- and *trans*-DCCA, 3-PBA, F-PBA and DBCA). This global model includes physiologically based pharmacokinetic models for each parent compound and one-compartment models for the metabolites. Existing *in vivo*, *in vitro* and *in silico* data were used for model calibration, and human toxicokinetic data for model evaluation. Overall, the global model reproduced the data accurately as about 90 % of predictions were inside the 3-fold error interval. A sensitivity analysis showed that the most influent parameter for each urinary metabolite concentration was the fraction of parent compound that is transformed into that metabolite. The global model was then tested with realistic exposures for the French population: the predictions were consistent with biomonitoring data. The global model is a tool that will improve the interpretation of biomonitoring data for pyrethroids.

Keywords: PBPK model, pyrethroids, metabolites, cumulative exposure, aggregate exposure, biomonitoring

Introduction

Pyrethroids are a family of organic compounds that have numerous usages as pesticides and biocides. They were introduced on the market in the mid-1970s and are increasingly used since the 1990s due to their broad spectrum (Corbel and N'Guessan, 2013; Feo *et al.*, 2010; Williams *et al.*, 2008). Many biomonitoring studies have shown the wide exposure of the general population in several countries (Barr *et al.*, 2010; Heudorf *et al.*, 2006; Morgan, 2012; Ueyama *et al.*, 2010). In France, biomonitoring studies showed that the adult population is exposed to higher levels than the German or North American populations (Dereumeaux *et al.*, 2018; Fréry *et al.*, 2011). Biomarkers of exposure that are used to estimate the population exposure are the urinary concentrations of five metabolites: 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA), *cis*- and *trans*-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylic acid (*cis*-DCCA and *trans*-DCCA), 4-fluoro-3-phenoxybenzoic acid (F-PBA), 3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylic acid (DBCA). These biomarkers can be specific to a pyrethroid parent compound or common to several pyrethroids (Ueyama *et al.*, 2010). For example, DBCA is specific to deltamethrin and *cis*-DCCA and *trans*-DCCA are common to several pyrethroids (*cis*- and *trans*-permethrin, *cis*- and *trans*-cyfluthrin and *cis*- and *trans*-cypermethrin). Common metabolites therefore reflect a cumulative exposure to several pyrethroid compounds.

Toxicokinetic models for specific pyrethroids have been developed in humans to relate external exposure to internal metabolite or parent compound concentrations by describing the process of absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME). These models can be multi-compartmental (Cote *et al.*, 2014; Xue *et al.*, 2014) or physiologically based pharmacokinetic models (PBPK) (Darney *et al.*, 2018; Godin *et al.*, 2010; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2013) that can facilitate the extrapolation between individuals and between exposure scenarios (Andersen *et al.*, 1995). Human PBPK models for deltamethrin (Godin *et al.*, 2010) and permethrin (Darney *et al.*, 2018; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2013) are currently available. These models were developed based on *in vivo* experiments in rats and then extrapolated to humans using *in vitro* data (Godin *et al.*, 2006; Hedges *et al.*, 2018; Scollon *et al.*, 2009; Willemin *et al.*, 2015). The PBPK models for permethrin were applied to predict the levels of urinary metabolites using exposure scenarios including several sources of exposure. For instance, Tornero-Velez *et al.* (2012) and Darney *et al.* (2018) applied their PBPK model for permethrin to predict the urinary concentrations of the DCCA metabolite in the US and French populations and compared the predictions to biomonitoring data. Similarly, Wei *et al.* (2013) assessed the permethrin exposure of flight attendants. These modeling works studied the

link between the exposure to one pyrethroid (or a combination of the isomers of one pyrethroid) and the urinary concentration of only one metabolite.

The interpretation of the urinary levels of common metabolites measured in populations requires to go a step further in order to account for the cumulative exposure to several pyrethroids compounds together with the aggregate exposure from the different routes. Indeed it is particularly important to determine which part of the common metabolite is attributable to a pyrethroid, as the toxicity levels differ between pyrethroids (ATSDR, 2003). Recently Aylward *et al.* (2018) first attempted to integrate such information in the derivation of biomonitoring reference values for the urinary 3-PBA metabolite for risk assessment. They developed a 2-tier approach whose second tier accounts for the weight of the relative exposures to several pyrethroid compounds and for the differences in toxicity magnitude.

In this paper, we develop a global toxicokinetic model to predict the urinary levels in humans of four pyrethroid metabolites, *i.e.* *cis*- and *trans*-DCCA, F-PBA and DBCA, following exposures to permethrin, cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin. The 3-PBA metabolite was also included in the global model but not all its parent compounds were taken into account. A generic PBPK model was adapted to the toxicokinetics of these pyrethroid compounds (Beaudouin *et al.*, 2010), and one-compartment models were developed for the metabolites. The models for the parent compounds and the metabolites were linked together. A total of seven parent compounds (*cis* and *trans* isomers of permethrin, cypermethrin, cyfluthrin, plus deltamethrin), and a total of 5 metabolites were included in the global model. This latter was evaluated before being applied to the estimation of the exposure of the French adult population. The cumulative and aggregated exposure to the four pyrethroids was calculated using national data, including exposure from food, air and dust. The model predictions of the urinary levels were compared to the biomonitoring data of the National Health Nutrition Study (Fréry *et al.*, 2011) for men and women. Finally, a sensitivity analysis was performed to identify the model parameters that influence the internal concentrations of parent compounds and the urinary concentration of metabolites in this context of multi-routes and multiple compounds.

Materials and Methods

Chemicals

Permethrin, cypermethrin and cyfluthrin are combinations of *cis* and *trans* isomers whereas deltamethrin is a pure *cis*-isomer. A total of 7 parent compounds was then studied in our work. All these pyrethroids undergo extensive metabolic transformations to form several chemical species. Table 1 presents the parent compounds with their respective urinary metabolites that are usually measured in biomonitoring studies. Among the five metabolites, only DBCA is specific to one pyrethroid, namely deltamethrin (DLT). F-PBA is specific to cyfluthrin but can be formed from the two isomers. *Cis*- and *trans*-DCCA can be formed respectively from the *cis* and *trans* isomers of permethrin (*cis*-PM and *trans*-PM), cypermethrin (*cis*-CYP and *trans*-CYP) and cyfluthrin (*cis*-CYF and *trans*-CYF). The metabolite 3-PBA is common to three pyrethroids and their isomers (permethrin, cypermethrin and deltamethrin), and can also be generated from other pyrethroids and their isomers, and can also be generated from other pyrethroids (Starr *et al.*, 2008).

Table 1. Pyrethroid compounds and their urinary metabolites.

Parent compounds	Metabolites
<i>cis</i> -permethrin	<i>cis</i> -DCCA, 3-PBA
<i>trans</i> -permethrin	<i>trans</i> -DCCA, 3-PBA
<i>cis</i> -cypermethrin	<i>cis</i> -DCCA, 3-PBA
<i>trans</i> -cypermethrin	<i>trans</i> -DCCA, 3-PBA
<i>cis</i> -cyfluthrin	<i>cis</i> -DCCA, F-PBA
<i>trans</i> -cyfluthrin	<i>trans</i> -DCCA, F-PBA
deltamethrin	DBCA, 3-PBA

DCCA: 3-(2,2-dichlorovinyl); 3-PBA: 3-phenoxybenzoic acid; F-PBA: 4-fluoro-3-phenoxybenzoic acid; DBCA: *cis*-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylic acid

Model structure for the parent compounds

A generic PBPK model, previously developed by Beaudouin *et al.* (2010), was used to describe the toxicokinetics of the pyrethroids in humans. This model is based on a detailed description of the anatomy of the human body and comprises 23 tissue compartments. The model structure is similar for men and women. Several changes were made to account for the specificities of pyrethroids (Figure 1). In the following, the quantities are in mg, the concentrations in mg/L, the volumes in L, and the blood flows in L/h.

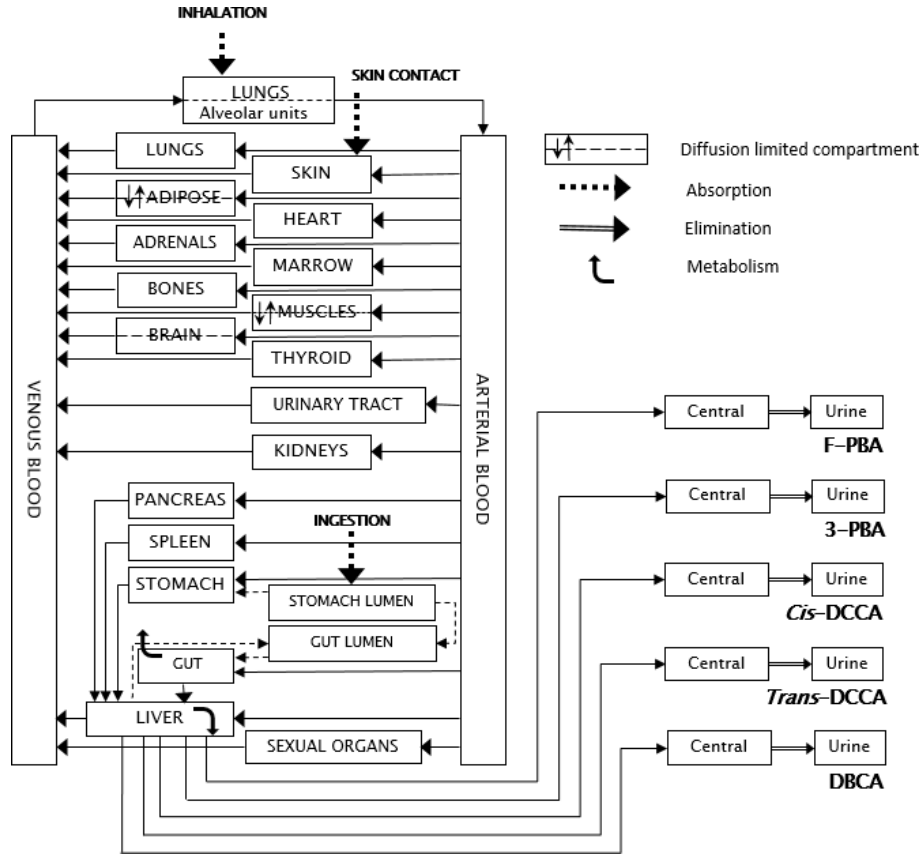


Figure 1. The global PBPK model for a pyrethroid and the urinary metabolites F-PBA, DBCA, 3-PBA and cis- and trans-DCCA.

Ingestion and inhalation were the exposure routes included in the initial model. Dermal contact was then added. Dermal absorption was modeled as a one-directional diffusive process across the stratum corneum and the viable epidermis. The skin compartment of the initial model was subdivided into two compartments representing the stratum corneum that is in contact with the skin's surface, and the vascularized tissue (named *skin* in the following). The transfer of chemicals between the different layers is modelled by diffusion processes (Tornero-Velez *et al.*, 2012):

$$\frac{d(Q_{surf})}{dt} = Q_{cut}(t) - K_{ds} \times Q_{surf}(t) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\frac{d(Q_{sc})}{dt} = K_{ds} \times Q_{surf}(t) - K_{dv} \times Q_{sc}(t) \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\frac{d(Q_{sk})}{dt} = K_{dv} \times Q_{sc}(t) + F_{Sk} \times C_{art}(t) - \frac{C_{Sk}(t)}{PC_{Sk:Bl}} \quad (\text{Eq. 3})$$

where Q_{surf} is the amount on the skin's surface, Q_{cut} , Q_{sc} and Q_{sk} are respectively the amounts

applied on the skin, in the stratum corneum, and in the vascularized tissue (skin), F_{sk} is the

entering blood flow in skin, C_{art} and C_{Sk} are respectively the concentrations in arterial blood and skin, $PC_{Sk:Bl}$ is the skin:blood partition coefficient, and K_{ds} and K_{dv} (h^{-1}) are the uptake rates between the skin's surface and the stratum corneum and between the stratum corneum and the skin compartment respectively.

Experimental studies in rodents showed that the distribution of pyrethroids is blood flow-limited in most of the compartments except the ones with a physiological barrier or slowly perfused (*i.e.*, brain, fat and muscle) (Mirfazaelian *et al.*, 2006; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Willemin *et al.*, 2016). These compartments were then subdivided into a vascularized compartment and an intracellular space. The exchanges between the two sub-compartments are governed by a permeability coefficient. In a compartment T , the quantities in the vascular (Q_{blT}) and the intracellular spaces (Q_T) are respectively:

$$\frac{d(Q_{blT})}{dt} = F_T \times C_{art}(t) - C_{blT}(t) - PA_T \times C_T(t) - \frac{C_T(t)}{PC_{T:Bl}} \quad (\text{Eq. 4})$$

$$\frac{d(Q_T)}{dt} = PA_T \times (C_{blT}(t) - \frac{C_T(t)}{PC_{T:Bl}}) \quad (\text{Eq. 5})$$

where F_T is the entering blood flow in the tissue, C_{art} the concentration in the arterial blood, C_{blT} the concentration in the vascular space of the compartment, C_T the concentration in the tissue, PA_T (L/h) the permeability coefficient, and $PC_{T:Bl}$ the tissue:blood partition coefficient.

Absorbed pyrethroids are eliminated from the body by metabolism. Metabolism in humans is rapid with a half-life in blood of few hours; it occurs in the liver and the intestines (Crow *et al.*, 2007; Godin *et al.*, 2007; Gotoh *et al.*, 1998). Metabolism was described by a first order process. The total rate of metabolism (R_{PYR} , mg/h) is therefore:

$$R_{PYR}(t) = R_{liv_PYR}(t) + R_{GI_PYR}(t) \quad (\text{Eq. 6})$$

$$\text{with } R_{T_PYR}(t) = CL_{T_PYR} \times C_{T_PYR}(t) \quad (\text{Eq. 7})$$

where R_{T_PYR} (mg/h) is the metabolic rate of pyrethroids in the tissue T (here liver and GI tract), CL_{T_PYR} (L/h) the clearance in the tissue T , and C_{T_PYR} (mg/L) the concentration in the tissue T .

Model structure for metabolites

Simple one-compartment models were used to describe the toxicokinetics of the metabolites, *i.e.* their formation and urinary elimination. The formation of the metabolite *MET* from the

pyrethroid *PYR* ($RoF_{PYRtoMET}$) was expressed as a fraction ($Frac_{PYRtoMET}$) of the global metabolic rate of *PYR* (R_{PYR} , Eq. 6) (Willemin *et al.*, 2016):

$$RoF_{PYRtoMET}(t) = Frac_{PYRtoMET} \times R_{PYR}(t) \times \frac{MW_{MET}}{MW_{PYR}} \quad (\text{Eq. 8})$$

where MW_X is the molecular weight of the chemical X . The total formation rate of the metabolite *MET* was obtained by summing the formation rates from all its parent compounds. The resulting amount of the metabolite *MET* (A_{MET}) was then obtained by subtracting the urinary elimination:

$$\frac{dA_{MET}}{dt} = \sum_{X \in PYR} RoF_{XtoMET}(t) - K_{uri_MET} \times A_{MET}(t) \quad (\text{Eq. 9})$$

with K_{uri_MET} (h^{-1}) the urinary excretion rate constant. The concentration in urine was obtained by dividing the amount of metabolite formed with the urinary flow (F_{urine} , L/h).

Model parameterization for parent compounds

The values of the PBPK model's parameters are reported in Table 2. The physiological parameters of the PBPK models, *i.e.* bodyweight, and organ volumes and perfusion, were implemented as proposed by Beaudouin *et al.* (2010) for men and women. The additional parameters (the blood volume fractions, BV) were obtained from Brown *et al.* (1997) ($BV_{fat} = 0.02$; $BV_{brain} = 0.03$; $BV_{muscle} = 0.04$).

The compound-specific parameters were set using published experimental or computational studies. Because of the variety of the study designs (*e.g.* organisms (humans or rodents) and cells), a priority order was defined to select the study that would be used for setting a parameter's value: *in vivo* human data, *in vitro* human data, *in vivo* animal data, and QSAR predictions. Studies with separate isomers experiments were also preferred to experiments done with a combination of isomers.

Oral absorption and excretion parameters were set using animal data for deltamethrin and *cis*- and *trans*-permethrin (Godin *et al.*, 2010; Willemin *et al.*, 2016). The parameter estimates were obtained by calibrating a PBPK model with animal toxicokinetic data. As no data were available for cypermethrin and cyfluthrin, the values of permethrin (isomer specific) were used for these compounds. For dermal absorption, the empirical values estimated by Tornero-Velez *et al.* (2012) for permethrin were used for all the compounds.

Distribution in the tissues is governed by the tissue:blood partition coefficients and the permeability coefficients for diffusion-limited compartments. Similarly to absorption, estimates

obtained from toxicokinetic experiments in rats were used for deltamethrin and permethrin (Godin *et al.*, 2010; Willemin *et al.*, 2016). Since no *in vivo* data for cypermethrin and cyfluthrin were available, the isomer specific estimates of permethrin were used for the permeability coefficients, and a QSAR model developed by Knaak *et al.* (2012) or the tissue:blood partition coefficients.

Metabolic clearances (CL_{T_PYR} in Eq. 7) were defined with human *in vitro* studies using hepatocytes (Willemin *et al.*, 2015) or hepatic microsomes (Godin *et al.*, 2006; Scollon *et al.*, 2009). Because no isomer-specific data were available for cypermethrin and cyfluthrin, the same value was used for both isomers. Experiments with β -cyfluthrin were used, as no data were available for cyfluthrin and as β -cyfluthrin is an enriched isomeric form of the two biologically active diastereoisomeric pairs of isomers of cyfluthrin.

Table 2. Parameter values of the PBPK model for the seven pyrethroids and isomers.

Parameters	<i>cis</i> -CYF	<i>trans</i> -CYF	<i>cis</i> -CYP	<i>trans</i> -CYP	<i>cis</i> -PM	<i>trans</i> -PM	DLT
Absorption and excretion rates (h⁻¹)							
Absorption from stomach	0.01 ^c	0.01 ^c	0.01 ^c	0.01 ^c	0.01 ^c	0.01 ^c	0.01 ^c
Absorption from Gut	0.52 ^b	1.30 ^b	0.52 ^b	1.30 ^b	0.52 ^b	1.30 ^b	1.51 ^g
Stomach-gut transfer	0.35 ^b	0.20 ^b	0.35 ^b	0.20 ^b	0.35 ^b	0.20 ^b	0.42 ^g
Fecal excretion rate	0.39 ^b	0.85 ^b	0.39 ^b	0.85 ^b	0.39 ^b	0.85 ^b	0.59 ^g
Surface-SC transfer ^e	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025
SC-venous blood transfer ^e	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Tissue:Blood partition coefficients							
Adipose	31.31 ^a	31.31 ^a	31.11 ^a	31.11 ^a	225.00 ^b	76.00 ^b	75.00 ^g
Adrenal	2.17 ^a	2.17 ^a	1.92 ^a	1.92 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Bone	2.17 ^a	2.17 ^a	8.68 ^a	8.68 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Brain	8.94 ^a	8.94 ^a	7.94 ^a	7.94 ^a	1.60 ^b	0.57 ^b	0.14 ^g
Breast	2.17 ^a	2.17 ^a	1.92 ^a	1.92 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Heart	2.17 ^a	2.17 ^a	1.92 ^a	1.92 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Marrow	2.17 ^a	2.17 ^a	1.92 ^a	1.92 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Muscle	3.42 ^a	3.42 ^a	3.03 ^a	3.03 ^a	1.20 ^b	0.82 ^b	5.64 ^g
Sexual organs	2.17 ^a	2.17 ^a	1.92 ^a	1.92 ^a	0.63 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Pancreas	2.17 ^a	2.17 ^a	1.92 ^a	1.92 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Skin	4.18 ^a	4.18 ^a	3.71 ^a	3.71 ^a	19.00 ^b	8.40 ^b	8.10 ^g
Spleen	2.17 ^a	2.17 ^a	3.04 ^a	3.04 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Thyroid	2.17 ^a	2.17 ^a	1.92 ^a	1.92 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Urinary tract	2.17 ^a	2.17 ^a	1.92 ^a	1.92 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Kidney	3.36 ^a	3.36 ^a	2.99 ^a	2.99 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Lung	2.17 ^a	2.17 ^a	0.67 ^a	0.67 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Gut	2.17 ^a	2.17 ^a	6.26 ^a	6.26 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Stomach	2.17 ^a	2.17 ^a	1.92 ^a	1.92 ^a	1.10 ^b	0.21 ^b	8.10 ^g
Liver	5.57 ^a	5.57 ^a	4.95 ^a	4.95 ^a	0.89 ^b	0.89 ^{*b}	19.0 ^g
Permeability coefficients (L/h)							
Adipose	0.048 ^b	0.11 ^b	0.048 ^b	0.11 ^b	0.048 ^b	0.11 ^b	0.025 ^g
Brain	0.001 ^b	0.0012 ^b	0.001 ^b	0.0012 ^b	0.001 ^b	0.0012 ^b	0.002 ^g
Muscle	0.32 ^b	0.48 ^b	0.32 ^b	0.48 ^b	0.32 ^b	0.48 ^b	0.043 ^g
Metabolic clearance (L/h/kg BDW)							
Intestinal	-	-	-	-	0.00 ^e	0.78 ^e	-
Liver	5.34 ^f	5.34 ^f	6.24 ^f	6.24 ^f	1.56 ^d	3.97 ^d	9.72 ^h

^aKnaak *et al.* (2012) ; ^bWillemin *et al.* (2016) ; ^cMirfazaelian *et al.* (2006) ; ^dWillemin *et al.* (2015) ; ^eTornero-Velez *et al.* (2012) ^fScollon *et al.* (2009) ^gGodin *et al.* (2010); ^hGodin *et al.* (2006); *equal to the *cis* isomer (not determined *in vivo*)

Model parameterization for metabolites

The parameters of the one-compartment model for the metabolites are the fractions formed from parent compounds ($Frac_{PYRtoMET}$ in Eq. 8), the urinary elimination rates (K_{uri_MET} in Eq. 9), and the urinary flow (F_{urine}). Toxicokinetic studies with controlled exposure of human volunteers were used to set values to the compound-specific parameters (Leng *et al.*, 1997b; Ratelle *et al.*, 2015a, b; Sams and Jones, 2012; Woollen *et al.*, 1992). The metabolite fractions ($Frac_{PYRtoMET}$) were computed using the percentage of the administered parent compound recovered as a metabolite corrected by the bioavailability (see Supplementary Data for details). The urinary elimination rates (K_{uri_X}) were computed with the apparent half-life ($t_{1/2}$) in urine obtained by the analysis of the elimination data provided in the experimental studies:

$$K_{uri_X} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \quad (\text{Eq. 10})$$

When several values for $t_{1/2}$ were available, the average was used (see the Supplementary Data). The parameters values for the metabolites' models are reported in Table 3. The urine flow rate (F_{urine}) was set to 0.07 L/h for men and 0.05 L/h for women (ICRP, 2002).

Table 3. Parameter values for the metabolite one-compartment models. The references for the urinary excretion rates are given in Supplementary Data.

Parameters	Cis-DCCA	Trans-DCCA	DBCA	3-PBA	F-PBA
Metabolite fractions ($Frac_{PYRtoMET}$)					
<i>trans</i> -Permethrin	-	0.61 ^a	-	0.85 ^a	-
<i>cis</i> -Permethrin	0.37 ^a	-	-	0.37 ^a	-
<i>trans</i> -Cypermethrin	-	0.57 ^{b,c}	-	0.39 ^{b,c}	-
<i>cis</i> -Cypermethrin	0.32 ^{b, f}	-	-	0.16 ^{b, f}	-
<i>trans</i> -Cyfluthrin	-	0.35 ^d	-	-	0.23 ^d
<i>cis</i> -Cyfluthrin	0.27 ^d	-	-	-	0.10 ^d
Deltamethrin	-	-	0.73 ^e	0.15 ^e	-
Urinary excretion rates (K_{uri_X} , h ⁻¹)	0.107	0.107	0.192	0.093	0.137

^aRatelle *et al.* (2015b); ^bRatelle *et al.* (2015a); ^cWoollen *et al.* (1992); ^dLeng *et al.* (1997b); ^eSams and Jones (2012)

Model evaluation

The global model was evaluated using all the human toxicokinetic studies. At least one study was available for each parent compound: permethrin (Gotoh *et al.*, 1998; Ratelle *et al.*, 2015b; Tomalik-Scharte *et al.*, 2005), cypermethrin (Ratelle *et al.*, 2015a; Woollen *et al.*, 1992), cyfluthrin (Leng *et al.*, 1997a; Leng *et al.*, 1997b), and deltamethrin (Sams and Jones, 2012). The characteristics of the *in vivo* studies are presented in Table 4. The global model was applied

and used to predict the measured data in each of these studies. Monte Carlo simulations (10,000) were performed to simulate inter-individual variability and uncertainty in parameters' values. Truncated normal distributions were assigned to the compound-specific parameters (absorption, metabolism, partition coefficients, permeability coefficients) with a variation of 30% of the mean value of the parameter and lower and upper bounds of 0.01% and 100% of the mean value of the parameter (except for fractions of metabolites that were truncated at 1). Bodyweight was set to the values of study volunteers. For each simulation, a vector of random parameter values was drawn from the probability distributions and was used as input of the global toxicokinetic model.

Table 4. In vivo studies with different exposures to pyrethroids conducted in humans.

Study	Molecule	Route	Dose	Data collected
(Gotoh <i>et al.</i> , 1998)	Permethrin	Oral	630 mg (poisoning)	Permethrin in blood
(Ratelle <i>et al.</i> , 2015b)	Permethrin	Oral	0.1 mg/kg	<i>cis</i> - and <i>trans</i> -DCCA, and 3-PBA in urine
(Woollen <i>et al.</i> , 1992)	Cypermethrin	Oral	3.3 mg	<i>cis</i> - and <i>trans</i> -DCCA, and 3-PBA in urine
(Ratelle <i>et al.</i> , 2015a)	Cypermethrin	Oral	0.1 mg/kg	<i>cis</i> - and <i>trans</i> -DCCA, and 3-PBA in urine
(Leng <i>et al.</i> , 1997a)	Cyfluthrin	Oral	0.03 mg/kg	<i>cis</i> - and <i>trans</i> -DCCA, and F-PBA in urine
(Sams and Jones, 2012)	Deltamethrin	Oral	0.01 mg/kg	DBCA and 3-PBA in urine
(Tomalik-Scharte <i>et al.</i> , 2005)	Permethrin	Dermal	3 g for 12 hours	Total DCCA in urine
(Woollen <i>et al.</i> , 1992)	Cypermethrin	Dermal	31 mg for 8 hours	<i>cis</i> - and <i>trans</i> -DCCA, and 3-PBA in urine
(Leng <i>et al.</i> , 1997b)	Cyfluthrin	Inhalation	160 µg/m ³ for 30 min	<i>cis</i> - and <i>trans</i> -DCCA, and F-PBA in urine

Sensitivity analyses

Sensitivity analyses (SA) were conducted on the global model to identify the parameters with the most impact on the blood concentrations of the parent compounds, and the urinary concentrations of the metabolites. SA were also performed for the brain concentrations regarding the neurotoxicity of pyrethroids under acute exposures. Continuous exposures similar for all parent compounds were assumed: 1 ng/kg/day for oral intakes, 1×10^{-3} ng/L for air concentration, and 1 ng/day for dermal contact. The sensitivity analyses were performed on concentrations at steady state.

We used two types of sensitivity analyses: first the Morris method to identify a subset of the most influential parameters among the 199 parameters of the global model, then the Sobol's method on this subset of parameters to quantify their impact on the concentrations of interest. The Morris method (Morris, 1991) is a one-factor-at-a-time (OAT) method where the impact of changing the values of input parameter is evaluated one by one in each run. It is a qualitative method providing a ranking of input parameters in order of importance. The method is particularly well-suited when the number of parameters is high. Each input factor may assume

a discrete number of values, called levels (p), which are chosen within the parameter range of variation. Three sensitivity measures are proposed for each parameter: μ (the mean) and μ^* (the mean of the absolute values) that estimate the overall effect of the factor on the output, and σ (the standard deviation) that estimates the ensemble of the second- and higher-order effects in which the parameter is involved. Thus, a high value of μ^* means that the parameter contributes to the dispersion of the output, and σ measures the linearity of the effects or the interaction with the other parameters. The sample size is defined by a number, r . Uniform distributions were assigned to the parameters of the global model with a coefficient of variation of 10% around their mean values. The number of realizations (r) was set to 1,000 and number of levels (p) to 6.

Model parameters with the highest impact on the concentrations of interest were selected to run a global sensitivity analysis with the Sobol's method (Saltelli *et al.*, 2008; Sobol *et al.*, 2007). This is a global variance-based method, using the decomposition of the model output's variance into a sum of terms depending on single factors (model parameters) and on interaction terms of higher order. It can handle nonlinear and non-monotonic functions and models. Model output variances were estimated using Monte Carlo integrals. Two independent input sample $n_1 \times p_1$ matrices (the "sample" matrix M1 and the "resample" matrix M2), where n_1 (100,000) is the sample size and p_1 the number of parameters, were used to compute the Monte Carlo integrals. Every row in M1 and M2 represents a possible parameter combination. Two indices were computed: the first order index (FOI) that is the variance contribution of one parameter to the total model variance, and the total order index (TOI) that is the result of the main effect of the parameter and of its interactions with the other parameters.

Application of the global model to the exposure of the French population

The global model was used to link the external exposure of the four pyrethroids to the urinary metabolite concentrations of the French population. The following exposure routes were considered: the ingestion of contaminated food, the inhalation in indoor and outdoor environments, and the dermal contact *via* suspended particles in air and sedimented dust.

Calculation of the aggregated exposure

Food ingestion was estimated using the pyrethroid concentrations measured different food groups collected on the French market (ANSES, 2011) and the average consumption of food and liquids of the French population (ANSES, 2009).

The following equation was used to calculate the daily intake (D_{oral} in mg/kg BW/day):

$$D_{oral} = \sum C_{food} \times IR_{food} \quad (\text{Eq. 11})$$

with C_{food} the pyrethroids' concentration in a food group (mg/kg of food) and IR_{food} the intake rates for adults (kg of food/kg BW/day) of the food group.

The method proposed by Hermant *et al.* (2017) for estimating the exposure from inhalation and dust of permethrin was applied for all the pyrethroids of interest. Exposure from inhalation (C_{inh} in ng/m³) was estimated by combining exposure from indoor and outdoor contaminated air:

$$C_{inh} = (C_{in} \times T_{in}) + (C_{out} \times T_{out}) \quad (\text{Eq. 12})$$

where C_{in} and C_{out} (ng/m³) are the indoor and outdoor concentrations respectively, and T_{in} (0.85) and T_{out} (0.15) the fractions of the time spent indoors and outdoors respectively (Klepeis *et al.*, 2001). The indoor air concentrations were taken from Blanchard *et al.* (2014) and from The French Central Laboratory of Air Quality Monitoring for outdoor air (LCSQA, 2009).

Dermal exposure is also possible by contact with suspended particles and sedimented dust (Weschler and Nazaroff, 2008). The dermal contact with the airborne particles ($D_{dermal_particles}$ in ng/d) was calculated as follows (Shi and Zhao, 2014):

$$D_{dermal_particles} = (vp \times C_{in} \times S \times Frac_{exp} \times T_{in}) + (vp \times C_{out} \times S \times Frac_{exp} \times T_{out}) \quad (\text{Eq. 13})$$

where C_{in} and C_{out} (ng/m³) are the indoor and outdoor concentrations respectively, T_{in} (h/d) and T_{out} (h/d) are the length of time indoors and outdoors respectively, vp the deposition velocity of airborne particles onto the skin's surface (m/h), $Frac_{exp}$ the fraction of body exposed (-), and S the body surface area (m²). The dermal contact with dust (D_{dermal_dust} in ng/d) was given by (Beko *et al.*, 2013):

$$D_{dermal_dust} = C_{dust} \times Frac_{exp} \times S \times Mp \times t \quad (\text{Eq. 14})$$

where C_{dust} (ng/g) is the concentration in dust, $Frac_{exp}$ the fraction of body exposed (-), S the body surface area (m²), Mp the is the amount of dust adhering to skin (g/m²) and t the daily exposure duration (h/d). The aggregate dermal dose (D_{dermal} in ng/d) is obtained by summing these two exposure pathways:

$$D_{dermal} = D_{dermal_dust} + D_{dermal_particles} \quad (\text{Eq. 15})$$

When a compound was not detected in food, outdoor or indoor air, or dust, the concentration was set to the limit of detection divided by two when it was known (food and outdoor air), otherwise to the limit of quantification divided by two (indoor air and dust) (EPA, 2000). None of the data used for the calculation of the exposure scenarios makes a distinction between the isomers of a pyrethroid. The ratios of *cis*- and *trans*-stereoisomers observed in the commercial formulations of the pyrethroids were then used to compute the dose of each isomer. The *cis:trans* ratios usually observed in the commercial formulations and used here are 40:60 for permethrin and cyfluthrin, and 42:58 for cypermethrin.

Study population and biomonitoring data

The French Nutrition & Health Survey (ENNS study) is a cross-sectional study carried out in the general French population. It was performed between February 2006 and July 2007. The study population included adults aged 18–74 years living in continental France in 2006–2007. About 400 adults (257 women and 139 men) participated in the pyrethroid pesticides study (Fréry *et al.*, 2011). Questionnaires were used to collect individual characteristics. For instance, the bodyweight of each participant was recorded (65.49 ± 15.01 kg for women and 77.93 ± 12.69 kg for men). The Dubois and Dubois (1989) equation was used to compute the body surface area with the weight and height of participants (1.69 ± 0.18 m² for women and 1.92 ± 0.16 m² for men) that is used for the computation of the exposure *via* dermal contact. One spot sample of first morning urines was also collected for each participant in order to measure the major urinary metabolites of pyrethroids. The detection rates were 98.5% for 3-PBA, 83.1% for DBCA, 56.1% for *cis*-DCCA, 86.1% for *trans*-DCCA and 29.8% for F-PBA (LOD = 0.03 µg/L and LOQ = 0.1 µg/L). The geometric mean of the quantified urinary metabolite concentrations (µg/L) and the 95% interval of confidence were: 0.74 [3.41; 6.15] for 3-PBA, 0.37 [0.48; 4.20] for DBCA, 0.17 [0.67; 2.17] for *cis*-DCCA, 0.39 [2.44; 5.27] for *trans*-DCCA and 0.68 [0.64; 1.24] for F-PBA.

Exposure scenario and simulations

Monte Carlo simulations were performed to account for inter-individual variability and uncertainty. Truncated normal distributions were assigned to the compound-specific parameters (absorption, metabolism, partition coefficients, permeability coefficients, urinary excretion) with the mean value and a coefficient of variation of 30%. The lower and upper bounds were defined as 0.01% and 100% of the mean value (except for fractions of metabolites that are truncated at 1). The intakes were also affected by uncertainty and variability. Normal

distributions were assigned to all intakes (diet intakes, inhaled concentration and applied dermal dose) with the mean value computed and a coefficient of variation of 500%. Normal distributions were also set to the bodyweight according to the actual distributions observed in the ENNS study. For each Monte Carlo simulation (10,000), a vector of random parameter values was drawn from the probability distribution functions and was used as input of the PBPK model. A continuous scenario of exposure by inhalation, oral and dermal contact was considered, and the model was run until steady-state in blood was achieved (1 month). The urinary concentrations of the five metabolites were recorded after 1 month of exposure.

Software

GNU MC Sim v5.6.6 simulation software was used to implement the PBPK model (Bois, 2009). The R package “sensitivity” was used (version 1.15.2) (Iooss *et al.*, 2018): the “morris” method for the Morris sensitivity analysis, and the “soboljansen” method for the Sobol sensitivity analysis.

Results

Model evaluation

We compared the experimental data observed in the human toxicokinetic studies with the corresponding model predictions (10,000 Monte Carlo simulations) (Figure 2). The data correspond to 189 measurements (concentrations or urinary excretion rates) related to five metabolites (3-PBA, F-PBA, *cis*-DCCA, *trans*-DCCA and DBCA) and one parent compound (permethrin). No human data were available to evaluate the toxicokinetics of the other three parent compounds predicted by the model. Figure 3 presents the comparison between the data and the model predictions, *i.e.* the average of the Monte Carlo simulations. Overall, the global model reproduced well the data: 98% of the predictions fall into the 10-fold interval with about 65% of the predictions in the 2-fold error interval, and 89% in the 3-fold one (Table S2 in Supplementary Data). The level of predictability is similar (about 60% in the 2-fold error interval) for the metabolites common to several pyrethroids (3-PBA, *cis*- and *trans*-DCCA) and is higher for the metabolites specific to one pyrethroid (DBCA and F-PBA), *i.e.* up to 90%. This could be explained by the fact that several studies were available for the common metabolites for model calibration and evaluation whereas only one study was available for DBCA and two studies, that were performed in the same laboratory, for F-PBA. The difference in predictability may then partly be a result of variability between studies. For permethrin (the only parent compound with data), only 9 data points were available for both isomers from one study (Gotoh *et al.*, 1998). Most of the predictions were within the 3-fold error interval. It should be noted that, in this study, the exposure resulting from poisoning and was unknown. Moreover, only one person was involved whereas other studies involved several volunteers (except one study with cyfluthrin administered by ingestion).

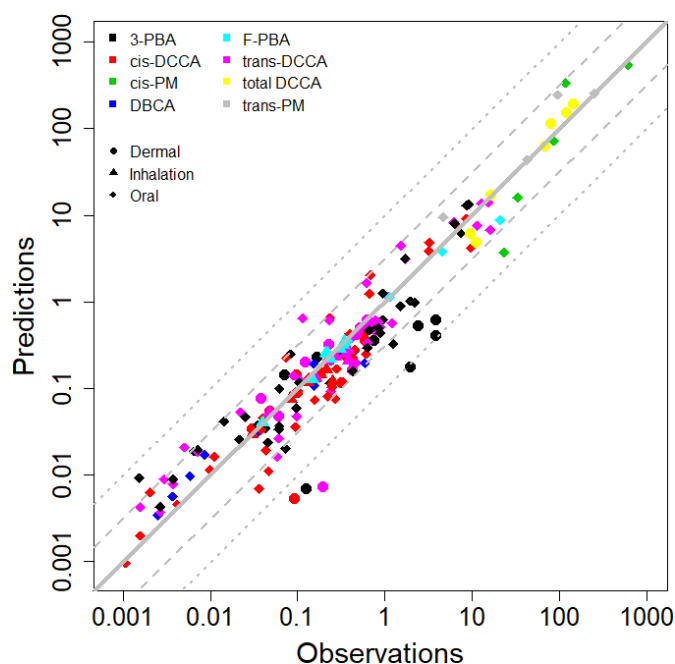


Figure 2. Comparison of the model predictions with experimental data obtained in humans after oral, dermal or inhalation exposure to one pyrethroid (Gotoh et al., 1998; Leng et al., 1997a; Leng et al., 1997b; Ratelle et al., 2015a, b; Sams and Jones, 2012; Tomalik-Scharte et al., 2005; Woollen et al., 1992). The five metabolites are represented (3-PBA, F-PBA, cis-DCCA, trans-DCCA, DBCA) and trans- and cis-permethrin. The plain line is the perfect correspondence between the predictions and the experimental data. The dashed lines represent the 5-fold error interval, and the dotted lines the 10-fold error interval.

Oral ingestion is the exposure route used in most of the studies (130 out of 189 data points). This route presents levels of predictability similar to the whole dataset, like the dermal contact route. For inhalation, predictability is better with almost all the predictions within the 2-fold interval (96%) but only one study for one parent compound (cyfluthrin) was available. The dermal route is the only route with predictions falling beyond the 10-fold error interval (about 11%), and they were all during the compound's absorption phase. We also compared the predictability between the absorption and elimination phases (54 vs. 135 data points). Similar predictability levels were observed but all predictions falling beyond the 10-fold interval were all during absorption.

In general, the toxicokinetic profiles are well reproduced by the model. For each profile, a confidence interval calculated with the Monte-Carlo simulations was obtained. About 88% of the datapoints (165 over 189) are within the confidence intervals. The average profile is encompassed in the 95% confidence interval with an upper bound corresponding to a 2-fold factor and a lower bound to a 0.2-fold factor compared to the mean, but the width of the confidence interval tends to increase as time since administration increases. The graphs of the

toxicokinetic profiles with the 95% confidence interval together and the experimental data are given in Figure S1 in the Supplementary Data for all studies.

Toxicokinetic parameters (maximum peak concentrations or excretion rates, time-to-peak levels and elimination half-lives) were computed from the predicted toxicokinetic profiles (Table 5). The maximum peak concentration or excretion rate and elimination half-life were well predicted by the model, and in general the time to peak was slightly over-estimated. Our analysis of different data sets also highlighted that the toxicokinetics of 3-PBA in urine observed in the study by Woollen *et al.* (1992) differ from other studies (Ratelle *et al.*, 2015a, b; Sams and Jones, 2012). The measured excretion rate was very high and the elimination half-life quite low unlike the observations in the other studies and the model predictions. Overall, all our results show that the global model is able to reproduce adequately the urinary toxicokinetics of the metabolites with a high level of predictability.

Table 5. Toxicokinetic parameters calculated from the in vivo studies with different exposures to pyrethroids conducted in humans. The predictions correspond to the mean and the 95% interval of confidence of 10,000 Monte Carlo simulations.

	Maximum peak concentration or excretion rate		Time-to-peak levels (h)		Elimination half-life (h)	
	Obs	Predictions	Obs	Predictions	Obs	Predictions
Permethrin oral						
Study by Gotoh <i>et al.</i> (1998) – blood concentration (mg/L)						
cis-PM	0.61	0.64 [0.21 – 1.64]	3	2.3 [1.7 – 3.5]	5.0	3.4 [2.1 – 6.5]
trans-PM	0.25	0.32 [0.10 – 0.86]	3	1.7 [1.2 – 2.5]	3.7	4.6 [2.6 – 9.2]
Study by Ratelle <i>et al.</i> (2015b) – urinary concentration (mg/L)						
cis-DCCA	0.61	0.29 [0.09 – 0.57]	[3 – 6]	7.3 [5.2 – 11.0]	6.2	7.8 [4.4 – 16.2]
trans-DCCA	1.22	0.66 [0.21 – 1.26]	[3 – 6]	8.1 [5.7 – 13.0]	6.5	8.0 [4.7 – 16.3]
3-PBA	2.20	1.04 [0.44 – 1.75]	[9 – 12]	8.1 [6.0 – 12.0]	6.7	8.9 [5.1 – 18.3]
Permethrin dermal						
Study by Tomalik-Scharte <i>et al.</i> (2005) – excretion rate (mg/h)						
Total DCCA	0.14	0.20 [0.06 – 0.41]	[18 – 24]	24.0 [19.5 – 32.0]	22.4	19.8 [11.1 – 40.9]
Cypermethrin oral						
Study by Woollen <i>et al.</i> (1992) – excretion rate (µg/h)						
cis-DCCA	9.8	9.3 [2.6 – 18.8]	[0 – 4]	6.7 [4.8 – 10.2]	7.6	8.4 [4.6 – 17.6]
trans-DCCA	16.2	14.7 [4.7 – 28.0]	[0 – 4]	8.1 [5.7 – 12.8]	8.8	10.3 [5.7 – 18.4]
3-PBA	9.3	13.9 [5.6 – 24.5]	[4 – 8]	7.8 [5.8 – 11.3]	9.4	11.1 [6.2 – 20.9]
Study by Ratelle <i>et al.</i> (2015a) – urinary concentration (mg/L)						
cis-DCCA	0.43	0.25 [0.07 – 0.51]	[3 – 6]	6.7 [4.8 – 10.0]	6.7	7.6 [4.1 – 16.4]
trans-DCCA	0.89	0.60 [0.19 – 1.13]	[3 – 6]	8.1 [5.7 – 13.0]	6.4	8.0 [4.6 – 16.5]
3-PBA	0.71	0.50 [0.20 – 0.91]	[12 – 24]	7.9 [5.8 – 12.0]	6.9	8.9 [5.1 – 18.1]
Cypermethrin dermal						
Study by Woollen <i>et al.</i> (1992) – excretion rate (µg/h)						
cis-DCCA	0.60	0.23 [0.05 – 0.50]	[24 – 36]	20.0 [15.2 – 30.0]	13.9	17.5 [10.0 – 37.2]
trans-DCCA	0.63	0.32 [0.08 – 0.68]	[12 – 24]	20.0 [15.3 – 30.0]	15.4	17.6 [10.0 – 37.2]
3-PBA	3.84	0.33 [0.10 – 0.68]	[12 – 24]	21.0 [15.8 – 31.0]	7.9	18.1 [10.3 – 37.6]
Cyfluthrin inhalation						
Study by Leng <i>et al.</i> (1997b) – excretion rate (µg/h)						
cis-DCCA	0.25	0.16 [0.05 – 0.31]	[0 – 1]	1.1 [0.7 – 2.0]	6.9	7.5 [4.1 – 15.8]
trans-DCCA	0.38	0.29 [0.08 – 0.55]	[0 – 1]	1.1 [0.7 – 2.0]	6.2	7.5 [4.2 – 15.6]
F-PBA	0.35	0.34 [0.12 – 0.61]	[1 – 2]	0.9 [0.5 – 1.7]	5.3	5.9 [3.3 – 12.1]
Cyfluthrin oral						
Study by Leng <i>et al.</i> (1997a) – excretion rate (µg/h)						
cis-DCCA	3.3	5.0 [1.5 – 10.0]	[0 – 12]	6.6 [4.8 – 10.0]	6.7	8.3 [4.6 – 17.1]
trans-DCCA	11.4	7.9 [2.2 – 15.4]	[0 – 12]	8.0 [5.5 – 12.8]	6.6	10.3 [5.7 – 18.1]
F-PBA	21.1	8.9 [3.5 – 15.9]	[0 – 12]	6.7 [5.0 – 9.8]	6.2	8.2 [4.6 – 16.5]
Deltamethrin oral (µg/L)						
Study by Sams and Jones (2012) – urinary concentration (mg/L)						
DBCA	0.59	0.28 [0.09 – 0.51]	[0 – 2]	4.5 [3.2 – 6.8]	4.0	4.7 [2.6 – 9.8]
3-PBA	0.06	0.04 [0.01 – 0.07]	[2 – 4]	5.7 [4.0 – 9.0]	8.3	8.9 [5.0 – 18.2]

Sensitivity analyses

The Morris method was used to select a subset of the 199 parameters that had the most influence on the parent compounds concentrations in blood and brain, and on the urinary metabolite concentrations. The Morris plots for all the model outputs of interest are provided in Figure S2 in the Supplementary Data. We observed that each model output is sensitive to a small number of parameters, and that the low standard deviation values indicate probably no interaction between parameters. We selected the 8 most influential parameters towards urinary metabolite concentrations and the 4 most influential parameters towards internal concentrations to run the variance-based Sobol's method. In the end, this selection includes a total of 46 parameters (list given in Table S3 in the Supplementary Data). For all compounds, these parameters are related to partitioning into the liver and brain, to metabolism and to absorption of the parent compounds.

The first-order (FOI) and total order indices of the model parameters obtained by the Sobol analyses are presented in Figure 3 for metabolites and Figure S3 in the Supplementary Data for the parent compounds. For all outputs, the Sobol results confirmed the Morris analyses on the absence of interaction between the model parameters meaning that the effects of the parameter on the model outputs are independent. A relatively high uncertainty of the prediction of the FOI was observed that may be a result of a high number of non-sensitive parameters integrated into the analysis and/or of the correlations between the parameters. The parameters with a high influence on blood and brain concentrations were absorption and excretion parameters, partition coefficient between liver and blood, liver clearance and diffusion in brain. These results are in agreement with previous published sensitivity analyses on the toxicokinetics of permethrin and deltamethrin (Darney *et al.*, 2018; Godin *et al.*, 2010; Mirfazaelian *et al.*, 2006; Wei *et al.*, 2013).

For the urinary metabolites' concentrations, the results showed that urinary metabolite concentrations are mostly influenced by the fractions of the metabolic rates of parent compound that lead to each metabolite ($Fra_{C_{PYRtoMET}}$). Some parameters related to absorption (*i.e.* absorption from stomach, gut and stomach-gut transfer) also influenced urinary metabolite concentrations to a lesser extent. Furthermore, the sensitivity analyses allowed to classify the parent compounds in terms of influence on the urinary concentrations of the common metabolites. For *cis*- and *trans*-DCCA, the ranking is: permethrin, cypermethrin and cyfluthrin. For 3-PBA, we obtained: *trans*-permethrin, *trans*-cypermethrin, *cis*-permethrin and, to a lesser

extent, *cis*-cypermethrin and deltamethrin. Finally, regarding F-PBA which is specific to cyfluthrin, the *trans* isomer appears to have a higher influence than the *cis* isomer.

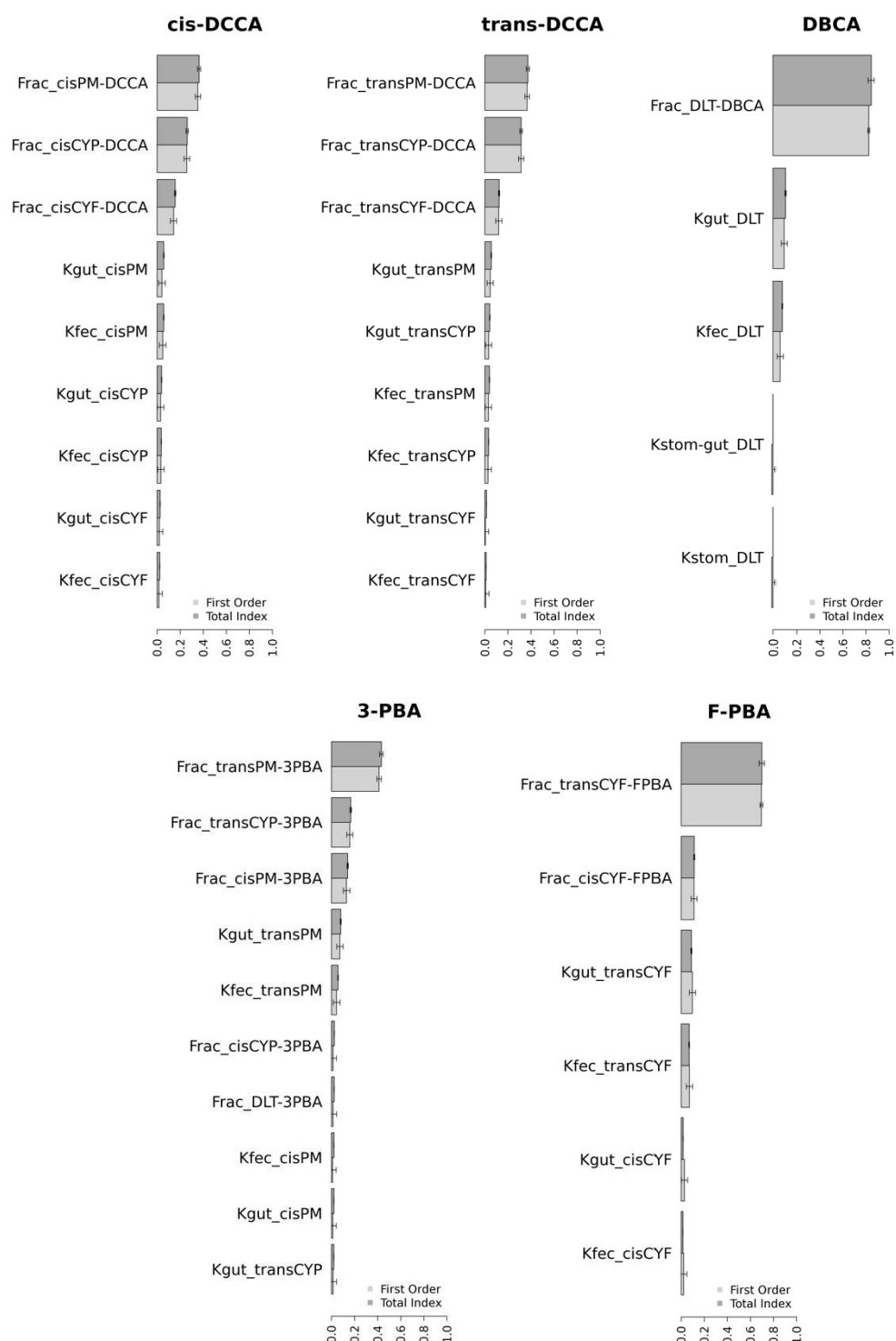


Figure 3. First-order (light grey) and Total (dark grey) Sobol sensitivity indices for urinary concentrations of *cis*-DCCA, *trans*-DCCA, 3-PBA, F-PBA and DBCA following exposure to *cis*- and *trans*-permethrin, *cis*- and *trans*-cypermethrin, *cis*- and *trans*-cyfluthrin and deltamethrin.

Simulation of urinary levels in the French population

The exposure doses calculated for the French population for the three exposure routes are presented in Table 6. A large part of the calculated oral daily intakes comes from the fact that in samples where no pyrethroids were detected, the LOQ or LOD divided by 2 was used. That tends to smooth the daily intakes between the pyrethroids. Indeed the detection rates in food were very low (<1%) for pyrethroids in all the food items and none of the investigated pyrethroids were detected in tap water (ANSES, 2011). That could be due to the rather high limits of detection (LOD) (5 µg/kg for cyfluthrin and cypermethrin and 3 µg/kg for permethrin and deltamethrin). Regarding the other routes, the frequency of quantification in dust was 84% for permethrin (n=25, LOQ = 0.09 µg/g) and 52% for cypermethrin (n=23, LOQ = 0.06 µg/g) (Blanchard *et al.*, 2014). For airborne particles, the frequencies of quantification were 40% for permethrin (n = 30, LOQ = 0.002 ng/m³) and 3% for cypermethrin (n=30, LOQ = 0.2 ng/m³) (Blanchard *et al.*, 2014). For outdoor air, the samples came from 12 French regions and were taken between 2001 and 2007. The sample sizes ranged from 42 for permethrin to 2,428 for cypermethrin, and the frequencies of quantification ranged from 0% (permethrin and cyfluthrin) to 0.3% (deltamethrin) (LOQ = 0.071 ng/m³) (LCSQA, 2009). According to our exposure estimates, the population is exposed mainly to permethrin and cypermethrin and to a lesser extent to cyfluthrin and deltamethrin for all the routes. Due to the use of commercial isomer formulations, the population is more exposed to the *trans* isomer than to the *cis* one.

Table 6. Calculated exposures of the French adult population to pyrethroids by the three routes of exposure, i.e. ingestion, inhalation and dermal contact. The results are represented by the average value ± SD.

Compound	Oral (µg/kg/d)	Inhalation (µg/m ³)	Dermal (µg/d)
Permethrin			
total	0.020 ± 0.100	7.3×10 ⁻⁵ ± 3.7×10 ⁻⁴	0.486 ± 2.430
cis isomer	0.008 ± 0.040	2.9×10 ⁻⁵ ± 1.5×10 ⁻⁴	0.194 ± 0.970
trans isomer	0.012 ± 0.060	4.4×10 ⁻⁵ ± 2.2×10 ⁻⁴	0.292 ± 1.460
Cypermethrin			
total	0.015 ± 0.075	1.9×10 ⁻⁵ ± 9.5×10 ⁻⁵	0.093 ± 0.465
cis isomer	0.006 ± 0.030	0.8×10 ⁻⁵ ± 4.0×10 ⁻⁵	0.039 ± 0.195
trans isomer	0.009 ± 0.045	1.1×10 ⁻⁵ ± 5.5×10 ⁻⁵	0.054 ± 0.270
Cyfluthrin			
total	0.012 ± 0.060	6.0×10 ⁻⁶ ± 3.0×10 ⁻⁵	0.029 ± 0.145
cis isomer	0.005 ± 0.025	2.0×10 ⁻⁶ ± 1.0×10 ⁻⁵	0.012 ± 0.060
trans isomer	0.007 ± 0.035	4.0×10 ⁻⁶ ± 2.0×10 ⁻⁵	0.017 ± 0.085
Deltamethrin	0.015 ± 0.075	7.0×10 ⁻⁶ ± 3.5×10 ⁻⁵	0.029 ± 0.145

The predictions of the urinary metabolite concentrations by the global PBPK model using the calculated exposures are consistent with the biomonitoring data of the ENNS study (Figure 4). The results were similar between men and women. Because of the low quantification rates of *cis*-DCCA and F-PBA in the study population (56.1% and 29.8% respectively), the predicted and measured distributions were represented either without accounting for the non-quantified samples, or by assigning the LOQ value (0.1 µg/L) to these samples and setting the model predictions below the LOQ to the LOQ. For all compounds, the predicted median is always higher than the measured one (except for F-PBA when the non-quantified samples are not considered). For men, the over-prediction factor is 3.5 for *trans*-DCCA, 3.3 for *cis*-DCCA, 1.4 for DBCA, 1.9 for 3-PBA, and 1.3 for F-PBA when the non-quantified samples are considered. When they are not, these factors are respectively 2.8, 1.4, 1.2, 1.8, and 0.4. Our results showed that the predictions are close to the measurements for metabolites specific to one compound, *i.e.* DBCA (deltamethrin) and F-PBA (cyfluthrin). For 3-PBA, the difference is less than two-fold but not all the pyrethroids parents forming that metabolite are taken into account in our analysis. Indeed, we considered three parent compounds (permethrin, cypermethrin and deltamethrin) among the eight parent compounds that can form 3-PBA. For *cis*- and *trans*-DCCA, all the parent compounds are considered and the difference between predictions and measurements are slightly higher than the 3-factor (median). The predicted distributions cover a large range of values that is a result of the inter-individual variability and the uncertainty in the exposure doses and in the PBPK parameters related to the physiology and biochemistry. However, we observed that the maximal values were always under-predicted by the model by a factor ranging from 0.7 for 3-PBA (pred: 5.2 µg/L; obs: 7.8 µg/L) to 0.1 for F-PBA (pred: 1.0 µg/L; obs: 12.3 µg/L) in men. In women, the under-prediction factor ranged from 0.4 for F-PBA (pred: 1.8 µg/L; obs: 4.5 µg/L) to 0.1 for *trans*-DCCA (pred: 5.5 µg/L; obs: 60.7 µg/L). We also observed that, unlike the predicted maximal value, the measured maximal value is highly variable between men and women.

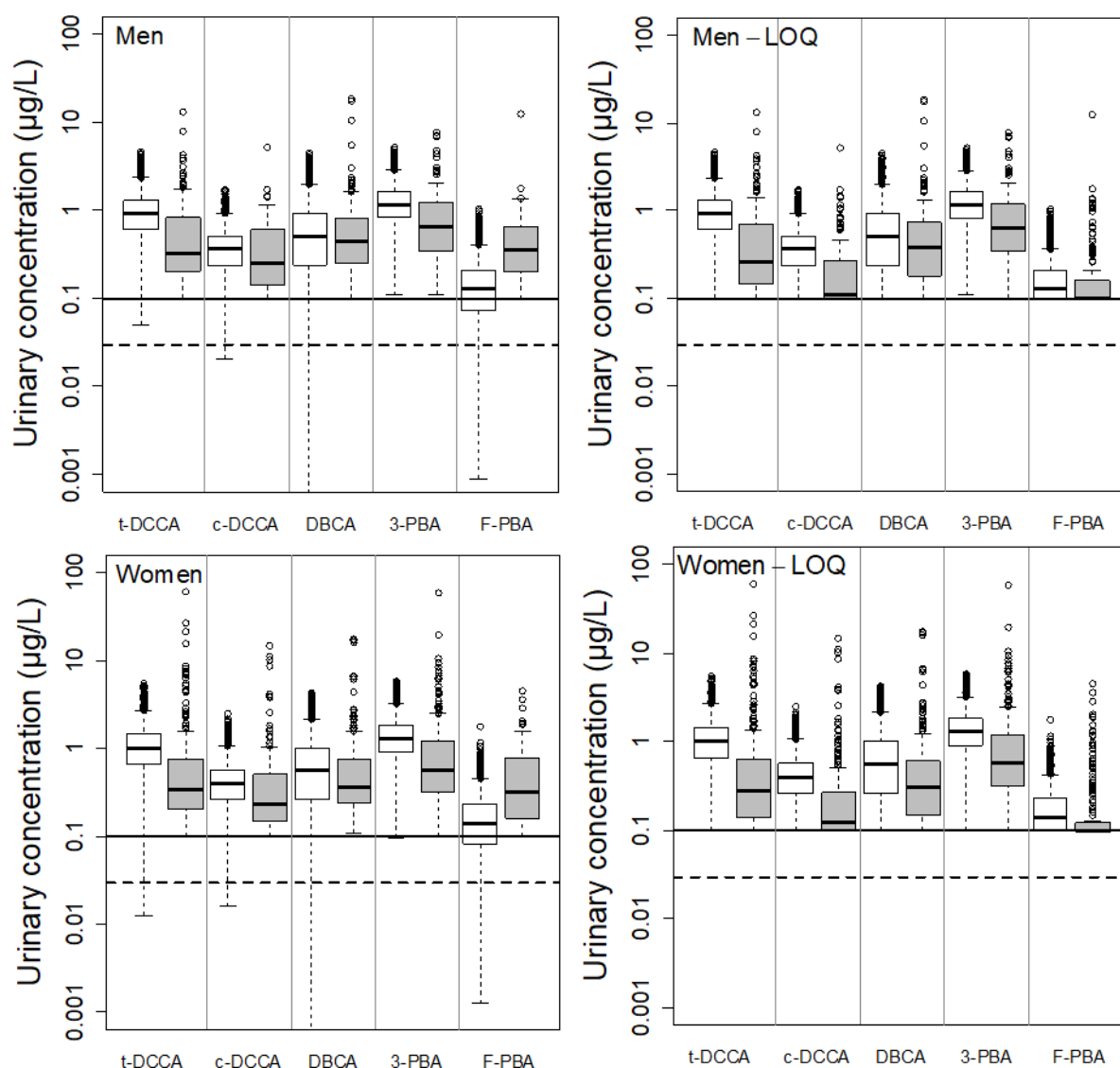


Figure 4. Predictions of urinary concentrations after cumulative exposures to pyrethroids: comparison of simulated (white boxplot) and measured (grey boxplot) of urinary concentration of *cis*-DCCA, *trans*-DCCA, 3-PBA, F-PBA and DBCA for men and women. The black plain line is the limit of quantification ($0.1 \mu\text{g/L}$), and the dotted line the limit of detection ($0.03 \mu\text{g/L}$). The percentage of quantification of urinary metabolites were 98.5% for 3-PBA, 56.1% for *cis*-DCCA, 86.1% for *trans*-DCCA, 29.8% for F-PBA and 83.1% for DBCA. The left panels present the distributions of the measured metabolite concentrations without the non-quantified samples, whereas in the right panels the predicted and measured distributions were truncated to the LOQ, i.e. the LOQ was assigned to the measured and predicted concentrations that were below the LOQ.

According to our assumptions on the exposure doses, we assessed the contributions of the three exposure routes to the metabolite concentrations in urine. The oral exposure is the major route as the inhalation and dermal exposures account for less than 1% of urinary concentrations. The contributions of the different pyrethroids to the urinary concentrations are presented in Figure 5 for men (similar results for women, not shown). These results are the average of the contributions calculated with the 10,000 Monte Carlo simulations. The cumulative

concentrations of *cis*- and *trans*-DCCA were formed by 45% of permethrin, 33% of cypermethrin, and 22% of cyfluthrin. These contributions are quite similar to the contributions to the global intake of parent compounds that could form *cis*- or *trans*-DCCA. Indeed, permethrin represents 42% of the global intake, cypermethrin 33%, and cyfluthrin 25%. The situation is different for 3-PBA, a metabolite common to permethrin, cypermethrin and deltamethrin. The contributions to the urinary concentrations were 61% for permethrin, 26% for cypermethrin and 13% for deltamethrin whereas the contributions to the global intake were, respectively, 40%, 30% and 30%. Deltamethrin contributes more to the global intake than to the 3-PBA concentrations, whereas it is the opposite for permethrin. F-PBA is generated from the two isomers of cyfluthrin whose contributions were 72% for the *trans* isomer and 28% for the *cis* isomer. The *trans* isomer has an increased contribution to the urinary concentrations compared to the intake (60% vs. 40%).

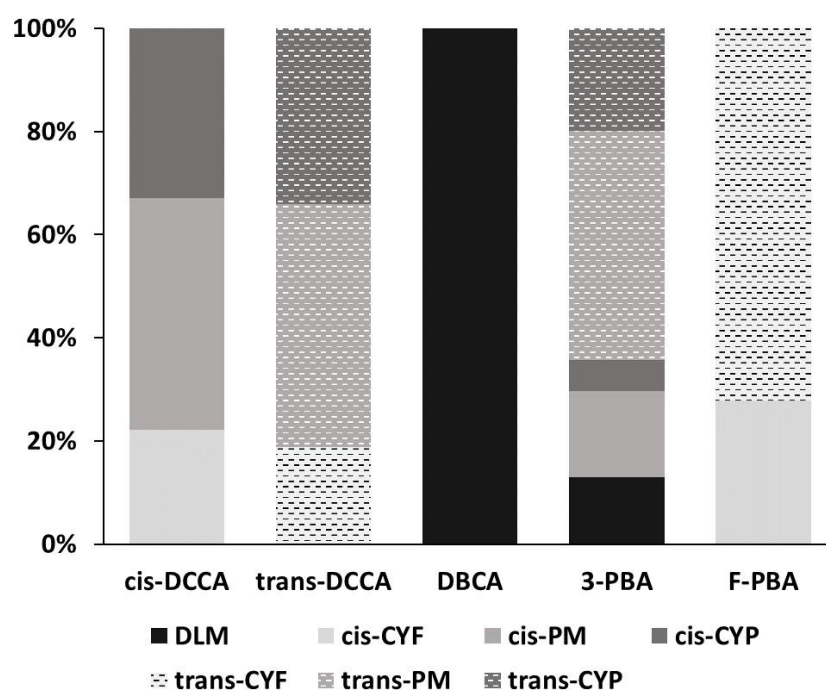


Figure 5. Contributions of parent compounds to the urinary metabolite concentrations predicted by the global model following the oral, dermal and inhalation exposures calculated for the French population. The results are the average of 10,000 Monte Carlo simulations. DLM stands for deltamethrin, CYF for cyfluthrin, CYP for cypermethrin, and PM for permethrin.

Discussion

The aim of our work was to propose a global toxicokinetic human model for four widely used pyrethroids (deltamethrin, permethrin, cypermethrin, and cyfluthrin including their *cis* and *trans* isomers) and their major urinary metabolites. This global model accounts for multi-route exposures (ingestion, inhalation and dermal contact) and for cumulative exposure to pyrethroids that share common metabolites.

Construction and evaluation of the global PBPK model

The PBPK models for the parent compounds were parameterized with numerous studies employing various methods (*in vitro*, *in vivo* and *in silico*). Previous studies in rats (Tornerov-Velez *et al.*, 2012; Willemin *et al.*, 2016) showed that the permethrin isomers (*cis* and *trans*) exhibit slightly different toxicokinetic profiles, with a rapid absorption and a longer residence time for the *cis*-permethrin compared to the *trans* isomer. We therefore chose to build specific PBPK models for the *cis* and *trans* isomers of permethrin, cypermethrin and cyfluthrin. Among the four pyrethroids parent compounds studied, the toxicokinetics of permethrin and deltamethrin were well characterized as they have been studied in animals and then extrapolated to humans (Darney *et al.*, 2018; Godin *et al.*, 2010; Mirfazaelian *et al.*, 2006; Tornerov-Velez *et al.*, 2012; Willemin *et al.*, 2016). On the contrary, the toxicokinetics of cyfluthrin and cypermethrin have not been studied *in vivo*. Their PBPK model parameters were therefore informed using *in vitro* or *in silico* studies or set to the values of the other two pyrethroids, notably for the absorption or permeability in organs. Because there were no available data for cyfluthrin and cypermethrin, we assumed that their isomers behave similarly in terms of partitioning into the tissues (predicted by QSAR) (Knaak *et al.*, 2012) and hepatic clearances (*in vitro* experiments) (Scollon *et al.*, 2009). The performance of the QSAR model was checked by comparing its predictions to the *in vivo* data for permethrin and deltamethrin. A factor of about 3 was observed between the experimental and calculated values (except for brain for which the difference was much higher), that is an acceptable error for QSAR predictions. Since there were no data for absorption and permeability of cyfluthrin and cypermethrin, data related to the specific isomers *cis*- and *trans*-permethrin were used for these processes. Globally, the values of the model's parameters are of the same order for all the parent compounds. For instance, the hepatic clearances are relatively close, between 1.56 L/h/kg for *cis*-permethrin and 9.72 L/h/kg for deltamethrin, as well as the partitioning into the tissues. As a result, the toxicokinetics of the parent compounds exhibit similar profiles. Even if the pyrethroids of

interest are metabolized by the same enzymes (cytochromes P450 and carboxylesterases), we did not model metabolic interactions in the global model as we used it for environmental low doses. Moreover, as observed *in vitro* in human hepatocytes for permethrin (Willemin *et al.*, 2015), the interaction between the *cis* and *trans* isomers was assumed negligible.

Unlike the parent compounds, the one-compartment models for metabolites were exclusively parametrized with *in vivo* data, most of them being observed in controlled human volunteer exposures (Leng *et al.*, 1997a; Leng *et al.*, 1997b; Ratelle *et al.*, 2015a, b; Sams and Jones, 2012; Woollen *et al.*, 1992). In most of these studies, the parent compound was administered as a mixture of isomers and the production of metabolites was reported as the percentage of the administered dose. For common metabolites of isomers (3-PBA, and F-PBA), it was therefore not possible to distinguish the proportion of the metabolite produced by each of the isomers. In a way similar to what Tornero-Velez *et al.* (2012) did, we used the study of Gaughan *et al.* (1977) to estimate these proportions. From that study, the parts of 3-PBA produced by the *cis* and *trans* isomers of permethrin were calculated, as the animals were exposed to each isomer separately. The same ratios (*cis/trans*) were then applied to the other parent compounds after correcting by the administered isomeric ratio. This method was applied to permethrin (3-PBA), cypermethrin (3-PBA) and cyfluthrin (F-PBA). Globally, the parameters' values of the one-compartment models for metabolites are in the same range. It can be noticed that the metabolite fraction of the *trans* isomers are always higher than the *cis* ones. Regarding the results of the sensitivity analyses, the fraction of the parent compound that is transformed into a metabolite greatly affects the model predictions of urinary metabolites' concentrations. The uncertainties lying in the extrapolation of the isomer ratios to common metabolites from one compound to another could be reduced by collecting new experimental data, and this will therefore improve the quality of the model predictions.

We chose to use most of all the human data available on the toxicokinetics of the pyrethroids and metabolites of interest. This enables to derive parameter's values, especially for the metabolic fractions, accounting for the variability between the different studies. Only one incoherence between studies was revealed, which was the toxicokinetic of 3-PBA in urine observed in the study by Woollen *et al.* (1992) that differs from the other studies following that metabolite (Ratelle *et al.*, 2015a, b; Sams and Jones, 2012). Nevertheless, some information is still missing, and assumptions had to be made. The model could be easily updated to include any new data that could refine quantitatively some processes or isomer-specific data, especially for cyfluthrin and cypermethrin. Our methodology for the parameterization of the compound-

specific parameters has provided good predictability of the global model. Most of the toxicokinetic data (studies other than the one used for parameterization) were reasonably simulated given uncertainties of model parametrization data and data used to evaluate the model, *i.e.* 65% and 89% of the model predictions fall into the 2-fold and 3-fold error interval respectively. The development of our model fulfills the key principles and best practices for characterizing and applying PBPK models in risk assessment defined by the World Health Organization (IPCS, 2010), in terms of model documentation, evaluation, and statistical analyses performed.

Prediction of the urinary concentrations in the French adult population

We tested the global model to predict the urinary concentrations of the five pyrethroids' metabolites based on the estimation of the cumulative and aggregate exposure of the French adult population to the four pyrethroids of interest. This application aimed at demonstrating that the global model together with an adequate scenario of exposure was able to reproduce biomarkers of exposure commonly measured in biomonitoring studies, here the ENNS study (Fréry *et al.*, 2011). To derive realistic exposure doses, we followed the methodology developed for permethrin by Hermant *et al.* (2017) for inhalation, dermal contact and dust, and by Darney *et al.* (2018) for food, but selected different datasets for the food and outdoor air contamination that are more representative of the French national exposure to be in concordance with the ENNS biomonitoring data. We then selected the outdoor air measured in 12 French regions between 2001 to 2007 (LCSQA, 2009). For food contamination, Darney *et al.* (2018) used data obtained by the French Ministry in charge of consumption (DGCCRF, 2008), the French Ministry in charge of agriculture (DGAL) and the French Ministry in charge of Health (DGS). These analyzes have been carried out within the framework of targeted controls for nonconformities observed previously or during reinforced controls on imports. In this work, we chose to use Total Diet Studies 2 that aimed to measure numerous chemicals in different food samples taken from the French market (ANSES, 2011). Besides the sampling scheme, the main difference between the two studies was the levels of detection of pyrethroids in the food samples that was a bit higher for the first studies but still quite low (not superior to 3% in all media). The low detection rate of the Total Diet Studies 2, that we used, was a consequence of the choice of the analytical method that had to be suitable for a large number of chemicals and was therefore not very sensitive to pyrethroids, with LOD between 3 µg/kg and 100 µg/kg. As a comparison, Melnyk *et al.* (2014) obtained LOD between 0.05 µg/kg and 0.8 µg/kg in a similar study on pesticides only. This low detection had an impact on our diet intake estimates as we

chose to replace the non-detected concentrations by the LOD divided by 2. This also explains why the computed diet intakes are rather similar between the pyrethroids of interest, with a maximum of 0.020 $\mu\text{g/kg/d}$ for permethrin and minimum of 0.012 $\mu\text{g/kg/d}$ for cyfluthrin. In the end, the choice of the studies on food and air contamination has a little impact on the calculated exposure doses as the ones we obtained for permethrin are quite similar to the intermediate exposures in France calculated in the previous works (Darney *et al.*, 2018; Hermant *et al.*, 2017). Despite the uncertainties in the French food contamination data, our exposure estimates are close to exposures calculated in other countries, the United States (Melnik *et al.*, 2014), Hong Kong (Wong *et al.*, 2014) and Spain (Quijano *et al.*, 2016). For instance, Melnik *et al.* (2014) estimated diet intakes slightly lower than our estimates, *i.e.* 0.018 vs. 0.02 $\mu\text{g/kg/d}$ for permethrin, 0.0095 vs. 0.015 $\mu\text{g/kg/d}$ for cypermethrin, and 0.003 vs. 0.012 $\mu\text{g/kg/d}$ for cyfluthrin. All our diet estimates are also well below the admissible daily intakes from World Health Organization are between 3 and 250 $\mu\text{g/kg/day}$ (respectively cyfluthrin and permethrin) for most common used pyrethroids (IPCS, 2009).

The aim of this part of the work was to provide reasonable exposure estimates to test the behavior of our global model. The calculated exposures were then used as inputs of the global model to predict the urinary concentrations of the five metabolites. Our results show that the model's predictions are in good agreement with the measured concentrations in the ENNS study (Fréry *et al.*, 2011). At maximum, a factor of 3 was observed between the medians of the predicted and observed distributions. The maximal observed concentrations are not well reproduced. The predictions could be improved by refining and individualizing the exposure scenarios. Indeed, pyrethroids are non-persistent compounds whose urinary concentrations are expected to greatly vary over the day according to the contact with the chemical and the time of sampling (Aylward *et al.*, 2017). Because no such data was available, we assumed a constant exposure throughout the day, which probably does not reflect real-life (diet) exposure. Other information such as diet, presence of animals at home, proximity to growing fields or the use of insecticides at home could be useful (Dereumeaux *et al.*, 2018).

Application in biomonitoring studies

One of the utilities of our global model will be to facilitate the interpretation of the biomarkers of exposure collected in biomonitoring studies for pyrethroids. Such a model will be an adequate tool to study the toxicokinetic of several pyrethroids and metabolites at the same time. That is an improvement of the current practices that consist in dealing with each compound

separately (Cote *et al.*, 2014; Darney *et al.*, 2018; Tornero-Velez *et al.*, 2012; Wei *et al.*, 2013). We performed several analyses to test the model behavior in that specific context. For instance, we identified the model parameters that influence the most the urinary concentrations under a constant exposure. It turned out that the toxicokinetics of the parent compounds have a little impact for this exposure scenario, and that the urinary concentrations were mainly driven by the metabolic fractions, that represent the fraction of the parent metabolism that is transformed in a specific metabolite. These results depend not only on the toxicokinetics but also on the chosen exposure scenario (steady-state at constant exposure). Under a real-life exposure scenario (several short exposures over the day), some other parameters, like the urinary excretion, will probably impact the urinary metabolites' concentrations. Another interesting result of the sensitivity analyses run with the global model was the ranking of the compounds in terms of impact on the urinary concentrations. For instance, the ranking order was: permethrin > cypermethrin > cyfluthrin for DCCA and permethrin > cypermethrin > deltamethrin for 3-PBA. As we assumed that the proportion of the *trans* isomer was always higher of the *cis* one in the administered doses, that ranking is also found in the sensitivity analyses results. Similarly, the ranking of the exposure routes was possible. As already observed with the ENNS study, our results highlighted that the oral exposure was the major route of exposure and inhalation and dermal exposure seems to be minor pathways. Overall, these results highlight the most important parameters of the model for the analysis of the metabolite urinary concentrations. The refinement of the input data for the most sensitive parameters (through additional experimental data) can support an improvement of the model prediction capabilities.

Conclusions

In conclusion, we developed a global model for pyrethroids in humans using *in vivo*, *in vitro* and *in silico* data. This model will be a useful tool to interpret biomonitoring data for pyrethroids that are urinary concentrations of their metabolites that can be common to several pyrethroids (*e.g.*, 3-PBA and DCCA). The global model combined with realistic cumulative and aggregated exposures to permethrin, cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin was tested for the French population. The results and the possible related analyses are promising for the application of this model in the context of biomonitoring studies and more generally in risk assessment. While this study focused on adults, the model could be easily adapted to children that are a more sensitive population in terms of exposure (Barr *et al.*, 2010; Egeghy *et al.*, 2011; Schulz *et al.*, 2009) and effects (Eskenazi *et al.*, 2018; Farag *et al.*, 2007; Shafer *et al.*, 2005). The PBPK model already integrates the physiological and anatomical changes due to age. Recently, several works studied the *in vitro* metabolism and the toxicokinetics of few pyrethroids in immature animals (Amaraneni *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2010; Mortuza *et al.*, 2018; Nallani *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2019).

Acknowledgements

We are grateful to the Nutritional Surveillance and Epidemiology Unit (USEN) which conducted the ENNS study with support from the French Institute for Public Health Surveillance (InVS) and the University of Paris 13. We also thank Cleo Tebby for proofreading the manuscript.

Funding

This work was supported by the French Ministry of Ecology and Sustainable Development (Program 190).

References

- Amaraneni, M., Pang, J., Bruckner, J.V., Muralidhara, S., Mortuza, T.B., Gullick, D., Hooshfar, S., White, C.A., Cummings, B.S., 2017. Influence of Maturation on In Vivo Tissue to Plasma Partition Coefficients for Cis- and Trans-Permethrin. *J Pharm Sci-U.S.* 106, 2144-2151.
- Andersen, M.E., Clewell, H.J., 3rd, Frederick, C.B., 1995. Applying simulation modeling to problems in toxicology and risk assessment--a short perspective. *Toxicology and applied pharmacology* 133, 181-187.
- ANSES, 2009. INCA2 (2006–2007). Report of the Individual and the National Study on Food Consumption no. 199. Agence française de sécurité sanitaire, alimentation, environnement, travail., Maisons-Alfort: French Food Safety Agency (AFSSA).
- ANSES, 2011. Second French Total Diet Study (TDS 2). Report 2: Pesticide residues, additives, acrylamide and polycyclic aromatic hydrocarbons. French agency for food, environmental and occupational health and safety (ANSES), Maisons-Alfort, France, p. 354.
- ATSDR, 2003. Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, p. 279.
- Aylward, L.L., Hays, S.M., Zidek, A., 2017. Variation in urinary spot sample, 24h samples, and longer-term average urinary concentrations of short-lived environmental chemicals: implications for exposure assessment and reverse dosimetry. *J Expo Sci Env Epid* 27, 582-590.
- Barr, D.B., Olsson, A.O., Wong, L.Y., Udunka, S., Baker, S.E., Whitehead, R.D., Magsumbol, M.S., Williams, B.L., Needham, L.L., 2010. Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U.S. population: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Environ Health Perspect* 118, 742-748.
- Beaudouin, R., Micallef, S., Brochot, C., 2010. A stochastic whole-body physiologically based pharmacokinetic model to assess the impact of inter-individual variability on tissue dosimetry over the human lifespan. *Regul Toxicol Pharm* 57, 103-116.
- Beko, G., Weschler, C.J., Langer, S., Callesen, M., Toftum, J., Clausen, G., 2013. Children's Phthalate Intakes and Resultant Cumulative Exposures Estimated from Urine Compared with Estimates from Dust Ingestion, Inhalation and Dermal Absorption in Their Homes and Daycare Centers. *Plos One* 8.

Blanchard, O., Glorennec, P., Mercier, F., Bonvallot, N., Chevrier, C., Ramalho, O., Mandin, C., Bot, B.L., 2014. Semivolatile organic compounds in indoor air and settled dust in 30 French dwellings. *Environmental science & technology* 48, 3959-3969.

Bois, F.Y., 2009. GNU MCSim: Bayesian statistical inference for SBML-coded systems biology models. *Bioinformatics* 25, 1453-1454.

Brown, R.P., Delp, M.D., Lindstedt, S.L., Rhomberg, L.R., Beliles, R.P., 1997. Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicol Ind Health* 13, 407-484.

Corbel, V., N'Guessan, R., 2013. Distribution, mechanisms, impact and management of insecticide resistance in malaria vectors : a pragmatic review. Manguin Sylvie (ed), Mouchet Jean (préf) *Anopheles mosquitoes : new insights into malaria vectors*.

Cote, J., Bonvalot, Y., Carrier, G., Lapointe, C., Fuhr, U., Tomalik-Scharte, D., Wachall, B., Bouchard, M., 2014. A Novel Toxicokinetic Modeling of Cypermethrin and Permethrin and Their Metabolites in Humans for Dose Reconstruction from Biomarker Data. *Plos One* 9.

Crow, J.A., Borazjani, A., Potter, P.M., Ross, M.K., 2007. Hydrolysis of pyrethroids by human and rat tissues: Examination of intestinal, liver and serum carboxylesterases. *Toxicology and applied pharmacology* 221, 1-12.

Darney, K., Bodin, L., Bouchard, M., Cote, J., Volatier, J.L., Desvignes, V., 2018. Aggregate exposure of the adult French population to pyrethroids. *Toxicology and applied pharmacology* 351, 21-31.

Dereumeaux, C., Saoudi, A., Gorla, S., Wagner, V., De Crouy-Chanel, P., Pecheux, M., Berat, B., Zaros, C., Guldner, L., 2018. Urinary levels of pyrethroid pesticides and determinants in pregnant French women from the Elfe cohort. *Environ Int* 119, 89-99.

DGCCRF, 2008. Rapport 2006 sur les plans de surveillance et de contrôles des résidus de pesticides dans les denrées d'origine végétale, Note d'information n°2008-101. . Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes., Paris : DGCCRF ; 2008.

Dubois, D., Dubois, E.F., 1989. Nutrition Metabolism Classic - a Formula to Estimate the Approximate Surface-Area If Height and Weight Be Known (Reprinted from *Archives Internal Medicine*, Vol 17, Pg 863, 1916). *Nutrition* 5, 303-311.

Egghy, P.P., Hubal, E.A.C., Tulse, N.S., Melnyk, L.J., Morgan, M.K., Fortmann, R.C., Sheldon, L.S., 2011. Review of Pesticide Urinary Biomarker Measurements from Selected US EPA Children's Observational Exposure Studies. *Int J Env Res Pub He* 8, 1727-1754.

EPA, U., 2000. Assigning values to non-detected/non-quantified pesticide residues in human health food exposure assessments. Office of Pesticide Programs. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC 20460.

Eskenazi, B., An, S., Rauch, S.A., Coker, E.S., Maphula, A., Obida, M., Crause, M., Kogut, K.R., Bornman, R., Chevrier, J., 2018. Prenatal Exposure to DDT and Pyrethroids for Malaria Control and Child Neurodevelopment: The VHEMBE Cohort, South Africa. *Environ Health Persp* 126.

Farag, A.T., Goda, N.F., Shaaban, N.A., Mansee, A.H., 2007. Effects of oral exposure of synthetic pyrethroid, cypermethrin on the behavior of F1-progeny in mice. *Reprod Toxicol* 23, 560-567.

Feo, M.L., Eljarrat, E., Barcelo, D., 2010. Determination of pyrethroid insecticides in environmental samples. *Trac-Trend Anal Chem* 29, 692-705.

Fréry, N., Saoudi, A., Garnier, R., Zeghnoun, A., Falq, G., 2011. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, p. 151.

Gaughan, L.C., Unai, T., Casida, J.E., 1977. Permethrin Metabolism in Rats. *J Agr Food Chem* 25, 9-17.

Godin, S.J., Crow, J.A., Scollon, E.J., Hughes, M.F., DeVito, M.J., Ross, M.K., 2007. Identification of rat and human cytochrome P450 isoforms and a rat serum esterase that metabolize the pyrethroid insecticides deltamethrin and esfenvalerate. *Drug Metab Dispos* 35, 1664-1671.

Godin, S.J., DeVito, M.J., Hughes, M.F., Ross, D.G., Scollon, E.J., Starr, J.M., Setzer, R.W., Conolly, R.B., Tornero-Velez, R., 2010. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling of Deltamethrin: Development of a Rat and Human Diffusion-Limited Model. *Toxicol Sci* 115, 330-343.

- Godin, S.J., Scollon, E.J., Hughes, M.F., Potter, P.M., DeVito, M.J., Ross, M.K., 2006. Species differences in the in vitro metabolism of deltamethrin and esfenvalerate: Differential oxidative and hydrolytic metabolism by humans and rats. *Drug Metab Dispos* 34, 1764-1771.
- Gotoh, Y., Kawakami, M., Matsumoto, N., Okada, Y., 1998. Permethrin emulsion ingestion: Clinical manifestations and clearance of isomers. *J Toxicol-Clin Toxic* 36, 57-61.
- Hedges, L., Brown, S., Vardy, A., Doyle, E., Yoon, M., Osimitz, T.G., Lake, B.G., 2018. Metabolism of deltamethrin and cis- and trans-permethrin by rat and human liver microsomes, liver cytosol and plasma preparations. *Xenobiotica*, 1-28.
- Hermant, M., Blanchard, O., Perouel, G., Boulanger, G., Merlo, M., Desvignes, V., 2017. Environmental Exposure of the Adult French Population to Permethrin. Risk analysis : an official publication of the Society for Risk Analysis.
- Heudorf, U., Butte, W., Schulz, C., Angerer, J., 2006. Reference values for metabolites of pyrethroid and organophosphorous insecticides in urine for human biomonitoring in environmental medicine. *Int J Hyg Envir Heal* 209, 293-299.
- ICRP, 2002. Basic Anatomical and Physiological Data for Use in Radiological Protection Reference Values. International Commission on Radiological Protection, ICRP Publication 89. *Ann. ICRP* 32 (3-4).
- Iooss, B., Janon, A., Pujol, G., 2018. Global Sensitivity Analysis of Model Outputs: R package "sensitivity". p. 96.
- IPCS, 2009. Inventory of IPCS and Other WHO Pesticide Evaluations and Summary of Toxicological Evaluations Performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR) through 2009. Tenth Edition. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety., Geneva, Switzerland., p. 56.
- IPCS, 2010. Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety., Geneva, Switzerland, p. 97.
- Kim, K.B., Anand, S.S., Kim, H.J., White, C.A., Fisher, J.W., Tornero-Velez, R., Bruckner, J.V., 2010. Age, Dose, and Time-Dependency of Plasma and Tissue Distribution of Deltamethrin in Immature Rats. *Toxicol Sci* 115, 354-368.

Klepeis, N.E., Nelson, W.C., Ott, W.R., Robinson, J.P., Tsang, A.M., Switzer, P., Behar, J.V., Hern, S.C., Engelmann, W.H., 2001. The National Human Activity Pattern Survey (NHAPS): a resource for assessing exposure to environmental pollutants. *J Expo Anal Env Epid* 11, 231-252.

Knaak, J.B., Dary, C.C., Zhang, X., Gerlach, R.W., Tornero-Velez, R., Chang, D.T., Goldsmith, R., Blancato, J.N., 2012. Parameters for pyrethroid insecticide QSAR and PBPK/PD models for human risk assessment. *Reviews of environmental contamination and toxicology* 219, 1-114.

LCSQA, 2009. Observation des niveaux de concentration en pesticides dans l'air ambiant. Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air.

Leng, G., Kuhn, K.H., Idel, H., 1997a. Biological monitoring of pyrethroids in blood and pyrethroid metabolites in urine: applications and limitations. *The Science of the total environment* 199, 173-181.

Leng, G., Leng, A., Kuhn, K.H., Lewalter, J., Pauluhn, J., 1997b. Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide cyfluthrin: urinary metabolite profile following inhalation. *Xenobiotica* 27, 1273-1283.

Melnyk, L.J., Xue, J.P., Brown, G.G., McCombs, M., Nishioka, M., Michael, L.C., 2014. Dietary intakes of pesticides based on community duplicate diet samples. *Science of the Total Environment* 468, 785-790.

Mirfazaelian, A., Kim, K.B., Anand, S.S., Kim, H.J., Tornero-Velez, R., Bruckner, J.V., Fisher, J.W., 2006. Development of a physiologically based pharmacokinetic model for deltamethrin in the adult male Sprague-Dawley rat. *Toxicol Sci* 93, 432-442.

Morgan, M.K., 2012. Children's Exposures to Pyrethroid Insecticides at Home: A Review of Data Collected in Published Exposure Measurement Studies Conducted in the United States. *Int J Env Res Pub He* 9, 2964-2985.

Morris, M.D., 1991. Factorial Sampling Plans for Preliminary Computational Experiments. *Technometrics* 33, 161-174.

Mortuza, T., Chen, C., White, C.A., Cummings, B.S., Muralidhara, S., Gullick, D., Bruckner, J.V., 2018. Toxicokinetics of Deltamethrin: Dosage Dependency, Vehicle Effects, and Low-Dose Age-Equivalent Dosimetry in Rats. *Toxicol Sci* 162, 327-336.

- Nallani, G.C., Chandrasekaran, A., Kassahun, K., Shen, L., ElNaggar, S.F., Liu, Z.W., 2018. Age dependent in vitro metabolism of bifenthrin in rat and human hepatic microsomes. *Toxicology and applied pharmacology* 338, 65-72.
- Quijano, L., Yusa, V., Font, G., Pardo, O., 2016. Chronic cumulative risk assessment of the exposure to organophosphorus, carbamate and pyrethroid and pyrethrin pesticides through fruit and vegetables consumption in the region of Valencia (Spain). *Food Chem Toxicol* 89, 39-46.
- Ratelle, M., Cote, J., Bouchard, M., 2015a. Time profiles and toxicokinetic parameters of key biomarkers of exposure to cypermethrin in orally exposed volunteers compared with previously available kinetic data following permethrin exposure. *J Appl Toxicol* 35, 1586-1593.
- Ratelle, M., Cote, J., Bouchard, M., 2015b. Toxicokinetics of permethrin biomarkers of exposure in orally exposed volunteers. *Toxicol Lett* 232, 369-375.
- Saltelli, A., Chan, K., Scott, E.M., 2008. *Sensitivity Analysis*. New York.
- Sams, C., Jones, K., 2012. Biological monitoring for exposure to deltamethrin: A human oral dosing study and background levels in the UK general population. *Toxicol Lett* 213, 35-38.
- Schulz, C., Angerer, J., Ewers, U., Heudorf, U., Wilhelm, M., Agcy, G.F.E., 2009. Revised and new reference values for environmental pollutants in urine or blood of children in Germany derived from the German Environmental Survey on Children 2003-2006 (GerES IV). *Int J Hyg Envir Heal* 212, 637-647.
- Scollon, E.J., Starr, J.M., Godin, S.J., DeVito, M.J., Hughes, M.F., 2009. In Vitro Metabolism of Pyrethroid Pesticides by Rat and Human Hepatic Microsomes and Cytochrome P450 Isoforms. *Drug Metab Dispo* 37, 221-228.
- Shafer, T.J., Meyer, D.A., Crofton, K.M., 2005. Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides: Critical review and future research needs. *Environ Health Persp* 113, 123-136.
- Shi, S.S., Zhao, B., 2014. Modeled Exposure Assessment via Inhalation and Dermal Pathways to Airborne Semivolatile Organic Compounds (SVOCs) in Residences. *Environmental science & technology* 48, 5691-5699.
- Sobol, I.M., Tarantola, S., Gatelli, D., Kucherenko, S.S., Mauntz, W., 2007. Estimating the approximation errors when fixing unessential factors in global sensitivity analysis. *Reliability Engineering & System Safety* 92, 957-960.

- Song, G., Moreau, M., Efremenko, A., Lake, B.G., Wu, H., Bruckner, J.V., White, C.A., Osimitz, T.G., Creek, M.R., Hinderliter, P.M., Clewell, H.J., Yoon, M., 2019. Evaluation of Age-related Pyrethroid Pharmacokinetic Differences in Rats: Physiologically-based Pharmacokinetic Model Development using In Vitro Data and In Vitro to In Vivo Extrapolation. *Toxicol Sci*.
- Starr, J., Graham, S., Li, D.S., Andrews, K., Nishioka, M., 2008. Pyrethroid pesticides and their metabolites in vacuum cleaner dust collected from homes and day-care centers. *Environ Res* 108, 271-279.
- Tomalik-Scharte, D., Lazar, A., Meins, J., Bastian, B., Ihrig, M., Wachall, B., Jetter, A., Tantcheva-Poor, I., Mahrle, G., Fuhr, U., 2005. Dermal absorption of permethrin following topical administration. *European Journal of Clinical Pharmacology* 61, 399-404.
- Tornero-Velez, R., Davis, J., Scollon, E.J., Starr, J.M., Setzer, R.W., Goldsmith, M.R., Chang, D.T., Xue, J.P., Zartarian, V., DeVito, M.J., Hughes, M.F., 2012. A Pharmacokinetic Model of cis- and trans-Permethrin Disposition in Rats and Humans With Aggregate Exposure Application. *Toxicol Sci* 130, 33-47.
- Ueyama, J., Saito, I., Kamijima, M., 2010. Analysis and evaluation of pyrethroid exposure in human population based on biological monitoring of urinary pyrethroid metabolites. *J Pestic Sci* 35, 87-98.
- Wei, B.N.A., Isukapalli, S.S., Weisel, C.P., 2013. Studying permethrin exposure in flight attendants using a physiologically based pharmacokinetic model. *J Expo Sci Env Epid* 23, 416-427.
- Weschler, C.J., Nazaroff, W.W., 2008. Semivolatile organic compounds in indoor environments. *Atmos Environ* 42, 9018-9040.
- Willemin, M.E., Kadar, A., de Sousa, G., Leclerc, E., Rahmani, R., Brochot, C., 2015. In vitro human metabolism of permethrin isomers alone or as a mixture and the formation of the major metabolites in cryopreserved primary hepatocytes. *Toxicology in Vitro* 29, 803-812.
- Willemin, M.E., Sophie, D.C., Le Grand, R., Lestremau, F., Zeman, F.A., Leclerc, E., Moesch, C., Brochot, C., 2016. PBPK modeling of the cis- and trans-permethrin isomers and their major urinary metabolites in rats. *Toxicology and applied pharmacology* 294, 65-77.

Williams, M.K., Rundle, A., Holmes, D., Reyes, M., Hoepner, L.A., Barr, D.B., Camann, D.E., Perera, F.P., Whyatt, R.M., 2008. Changes in Pest Infestation Levels, Self-Reported Pesticide Use, and Permethrin Exposure during Pregnancy after the 2000-2001 US Environmental Protection Agency Restriction of Organophosphates. *Environ Health Persp* 116, 1681-1688.

Wong, W.W., Yau, A.T., Chung, S.W., Lam, C.H., Ma, S., Ho, Y.Y., Xiao, Y., 2014. Dietary exposure of Hong Kong adults to pesticide residues: results of the first Hong Kong Total Diet Study. *Food additives & contaminants Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment* 31, 852-871.

Woollen, B.H., Marsh, J.R., Laird, W.J., Lesser, J.E., 1992. The metabolism of cypermethrin in man: differences in urinary metabolite profiles following oral and dermal administration. *Xenobiotica* 22, 983-991.

Xue, J.P., Zartarian, V., Tornero-Velez, R., Tulse, N.S., 2014. EPA's SHEDS-multimedia model: Children's cumulative pyrethroid exposure estimates and evaluation against NHANES biomarker data. *Environ Int* 73, 304-311.

Exposition cumulée et agrégée aux pyréthrinoïdes en France : comparaison des concentrations prédites et mesurées des métabolites urinaires

Cet article est co-écrit avec des chercheurs de l'ANSES dans le cadre du projet européen EuroMix. La version du manuscrit de thèse n'est pas la version finale.

Sera soumis à *Food and Chemical Toxicology* avant fin 2019.

Les pyréthrinoïdes sont couramment utilisés comme insecticides dans l'entretien des logements, l'agriculture, les produits vétérinaires et les médicaments en France. Une revue approfondie de la littérature a été réalisée pour collecter des données sur les sources d'exposition humaine et les facteurs d'exposition afin d'estimer l'exposition agrégée et cumulée et estimer le risque pour la santé lié à l'exposition aux pyréthrinoïdes. L'exposition externe à quatre pyréthrinoïdes (cyfluthrine, cyperméthrine, deltaméthrine et perméthrine) de la population adulte française a été estimée pour différentes voies (orale, inhalation et contact cutané) et par différentes sources (alimentation, poussières, air intérieur et extérieur, animaux traités et médicaments).

Trois scénarios probabilistes ont été élaborés en traitant différemment les données censurées : i) un scénario optimiste consistant à remplacer les valeurs inférieures à la limite de détection (LOD) ou de quantification (LOQ) par zéro, ii) un scénario pessimiste consistant à remplacer les valeurs inférieures à la LOD ou la LOQ par les valeurs de ces limites, iii) un scénario intermédiaire (*refine*) consistant à appliquer la proportion de données quantifiées pour remplacer la même proportion de valeurs non détectées par $(LOD + LOQ) / 2$, alors que les autres valeurs non détectées ont été laissées à zéro.

Notre modèle pharmacocinétique à base physiologique (*Physiologically Based Pharmacokinetic* – PBPK) global développé pour relier l'exposition externe aux quatre pyréthrinoïdes aux concentrations urinaires de métabolites (*cis*- et *trans*-DCCA, 3-PBA, F PBA et DBCA) a été utilisé. Les expositions internes prédites à partir des trois scénarios des expositions externes ont été comparées aux concentrations urinaires de métabolites de l'enquête de biosurveillance ENNS. À partir des concentrations internes et externes, les principales voies et sources d'exposition à chaque pyréthrinoïde ont été identifiées.

Les résultats probabilistes des simulations du modèle PBPK global ont montré que le scénario intermédiaire prédisait les concentrations de métabolites urinaires les plus proches de celles des données de la population ENNS. À l'exception d'un métabolite (F-PBA), les concentrations prédites des métabolites des pyréthriinoïdes dans les urines étaient du même ordre de grandeur que celles mesurées.

La principale source d'exposition externe aux pyréthriinoïdes estimée était l'ingestion de deltaméthrine, suivie de l'ingestion de cyfluthrine et principalement par voie alimentaire. Pour les adultes les plus exposés, l'exposition cutanée à la perméthrine par les animaux traités et les médicaments contribuaient fortement à l'exposition cumulée. Cependant, les pyréthriinoïdes semblent avoir des difficultés à pénétrer dans la barrière cutanée puisqu'aucun métabolite n'était corrélé à une exposition cutanée. Par conséquent, il a été constaté que l'exposition orale est principalement *via* l'alimentation (90 %) influençait principalement les concentrations urinaires de métabolites. Plus spécifiquement, les céréales et les produits d'origine animale ont contribué le plus à l'exposition aux différents pyréthriinoïdes. En ce qui concerne l'effet neurotoxique, aucun risque associé à l'exposition cumulée et agrégée aux quatre pyréthriinoïdes n'a été observé pour la population adulte française.

A Cumulative and aggregate exposure to pyrethroids in France: comparison of modelled and measured urine metabolite concentrations

Marie Vanacker¹, Paul Quindroit², Corinne Mandin³, Philippe Glorennec⁴, Céline Brochot², Amélie Crépet¹

1 French Agency for Food, Environmental and Occupational Safety (ANSES), Risk Assessment Department, Methodology and Studies Unit, 947001, Maisons-Alfort, France.

2 Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS), Models for Ecotoxicology and Toxicology Unit, Parc ALATA, BP2, 60550 Verneuil-en-Halatte, France

3 University of Paris-Est, Scientific and Technical Center for Building (CSTB), Health and Comfort Department, French Indoor Air Quality Observatory (OQAI), 84 Avenue Jean Jaurès, Champs sur Marne, 77447, Marne-la-Vallée Cedex 2, France.

4 Rennes University, EHESP, INSERM, Research Institute for Environmental and Occupational Health (IRSET) - UMR_S 1085, F-35000 Rennes, France.

Abstract

Pyrethroids are commonly used as insecticides in households, in agriculture or in veterinary and medicine products in France. An extensive review of the literature was made to collect relevant data on human exposure sources and exposure factors to estimate aggregate exposure and health risk to pyrethroids. External exposure to four pyrethroids (cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin and permethrin) of the adult population in France was estimated *via* different routes (oral, inhalation and dermal) and sources (diet, home dust, indoor and outdoor air, treated pets, and medicine products). A physiologically-based toxicokinetic model developed for the four pyrethroids that broken down into 5 metabolites was used. The internal exposures modelled from external exposures were compared to metabolite concentrations from one previous biomonitoring survey. From external and internal concentrations, the main routes and sources of exposures to each pyrethroid were identified.

Except for one metabolite (F-PBA), modelled urinary concentrations of pyrethroid metabolites were in the same order of magnitude as the measured ones. From the ENNS survey, the main source of external pyrethroid exposure was the ingestion of deltamethrin followed by the ingestion of cyfluthrin both *via* food. For the most exposed adults, external dermal exposure of permethrin through treated pets and medicine products significantly contributed to cumulative exposure. However, pyrethroids seems to have difficulties to penetrate the dermal barrier as no metabolite was correlated to dermal exposure. Consequently, the dietary exposure to the four pyrethroids was found to considerably influenced metabolite concentrations in urine. More specifically cereals and products from animal origins were observed as the major contributors to the exposure to the different pyrethroids. Regarding neurotoxic effect, no risk associated to the cumulated and aggregate exposure to the four pyrethroids was observed for the French adult population.

Introduction

On a daily basis populations are exposed to diverse substances which can interact and cause health effects. Substances can come from several sources from the environment and the diet. In order to determine management options to mitigate exposure and the associated risk, the identification of exposure sources and factors contributing to the overall exposure is currently essential. Aggregate exposure is defined as the sum of all sources of exposure (air, dust, food, water, *etc.*) via different exposure routes (ingestion, inhalation and dermal absorption). Cumulative risk assessment considers the exposure from one or several sources and a common toxic effect of several substances grouped in a mixture. Thus, by aggregating exposure for each substance of a mixture, it is possible to have a complete exposure to a mixture and to estimate the associated cumulative risk when focusing on a common toxic effect. In order to determine management options to mitigate exposure and the associated risks, the identification of exposure sources and factors contributing to total exposure is currently essential. However, the modelling of aggregate exposure is complex and performing aggregate exposure assessments often requires considering data from different databases with different populations, different methodologies, or at different individual levels.

The internal exposure to a substance in the human body can be estimated in applying a physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) model on external exposure or by directly measuring the concentrations in the urine or in blood. Biomonitoring data considers aggregate exposure by nature, but this data does not enable to estimate the respective contribution of each exposure source or route, that is why it is important to combine both approaches.

The present study is part of the EuroMix project (No. 633172, H2020-SFS-2014-2) which has developed a strategy for cumulative risk assessment of mixtures. In this project, Crépet *et al.* (2018) identified a main pesticide mixture throughout nine European populations chronically exposed to 144 pesticides by food in relation to the steatosis effect. They found that two pyrethroids, cypermethrin and deltamethrin, were among the 15 pesticides composing the main mixture. In France, pyrethroids were analysed in three biomonitoring surveys for adult population in the French Nutrition and Health Survey (ENNS) (Fréry *et al.*, 2013), for pregnant women in the French Longitudinal Study since Childhood (ELFE) (Dereumeaux *et al.*, 2018) and for mother-child cohort focused on the endocrine disrupters: “Etudes Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l’Infertilité et l’Enfance” (PELAGIE) (Viel *et al.*, 2015). Both surveys, ENNS and EFLE highlighted high urinary concentrations of pyrethroid metabolites in

comparison to other countries. For example, the urinary concentration of the 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA) in the French Nutrition and Health Survey (ENNS) was averaging $0.74 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Fréry *et al.*, 2013), while it was at $0.25 \mu\text{g.L}^{-1}$ in the Canadian population (Health Canada, 2010), at $0.31 \mu\text{g.L}^{-1}$ in the American population (CDC, 2009), and at $0.04 \mu\text{g.L}^{-1}$ in the German population (Egerer *et al.*, 2004). Similar high concentrations were observed for other metabolites the *cis* and *trans*-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylic acid (*cis* and *trans*-DCCA), the 4-fluoro-3-phenoxybenzoic acid (F-PBA), the *cis*-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylic acid (DBCA) related to the four selected pyrethroids (Fréry *et al.*, 2013). As permethrin shares these metabolites and is one of the most commonly used pyrethroids in France for household activities, several additional studies were conducted to explain this high exposure to this substance in France (Darney *et al.*, 2018; Hermant *et al.*, 2017). They observed that diet was the main source of exposure to the permethrin metabolites, while this substance is no longer approved since 2000 for agricultural use by European regulations (Regulation (EC) No 1107, 2009; Regulation (EU) No 528, 2012). Other pyrethroids such as cyfluthrin, cypermethrin and deltamethrin are also very common and may also be synthesized into metabolites including the ones of permethrin. The global PBPK model of Quindroit *et al.* (2019) has been developed to consider the exposures of these four main pyrethroids (*e.g.* permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, and deltamethrin) to calculate their metabolite urinary concentrations, *i.e.*, 3-PBA, *cis* and *trans*-DCCA, F-PBA, and DBCA concentrations.

Exposure to high concentrations of pyrethroids in humans, either by ingestion, dermal or inhalation exposure, may result in clinical signs of neurotoxicity. High concentrations in the body may cause dizziness, headache, nausea, muscle twitching, changes in awareness, convulsions and loss of consciousness (ATSDR, 2003). More specifically, pyrethroids are known to act principally on the sodium channels of nerve cells in exerting their toxic effects (ATSDR, 2003; Cao *et al.*, 2011; Soderlund *et al.*, 2002). A long-term health effects of pyrethroids was also observed on the reproductive systems (Koureas *et al.*, 2012; Van Balen *et al.*, 2012) and early childhood development (Van Balen *et al.*, 2012). The potencies and efficacies of the alterations of pyrethroids on the sodium influx in mammalian neurons differ significantly among the substances leading to different toxicological reference values. Moreover, mixture of pyrethroids in food items may have a dose additive alteration on the sodium channel. Deltamethrin is the substance with the highest potency, following by the β -cyfluthrin. Cypermethrin produced modest increases in sodium influx, whereas permethrin was

inactive (Cao *et al.*, 2011). Thus, it is essential to aggregate and cumulate all pyrethroids to assess the health risk.

The aim of this study is i) to identify and aggregate the sources of exposure of cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin and permethrin in the adult population in France, ii) to compare modelled urinary concentrations of their metabolites with measured ones, and iii) to conduct a cumulative risk assessment related to several damages in the body and significant neurological disorders. From external and internal concentrations, the main exposures by route, source and pyrethroid were identified to determine the ones most involved into cumulative exposure and into metabolite concentrations.

Materials and Methods

General framework

The overall framework of the study is presented on Figure 1. Firstly, six external sources were identified as potential sources of pyrethroid concentrations, *i.e.* food/water, home settled dust, veterinary usages for pet treatments, medicine usages in human in the case of scabies treatments, and outdoor/indoor air. According to the source of exposure, these sources were used for different exposure routes with the consideration of exposure factors and fixed value. Secondly, aggregate exposure for each pyrethroid was assessed by 2D Monte-Carlo simulations with the R software (R Core Team, 2017).

Thirdly, in one hand, aggregate exposure of each pyrethroid was added for the cumulative risk assessment. In another hand, metabolite concentrations in urinary were assessed from aggregate exposure with GNU MC Sim v5.6.6 simulation software (Bois, 2009). Results of modelled metabolite concentrations were then finally compared to those measured in biomonitoring data.

The following sections show details for each process.

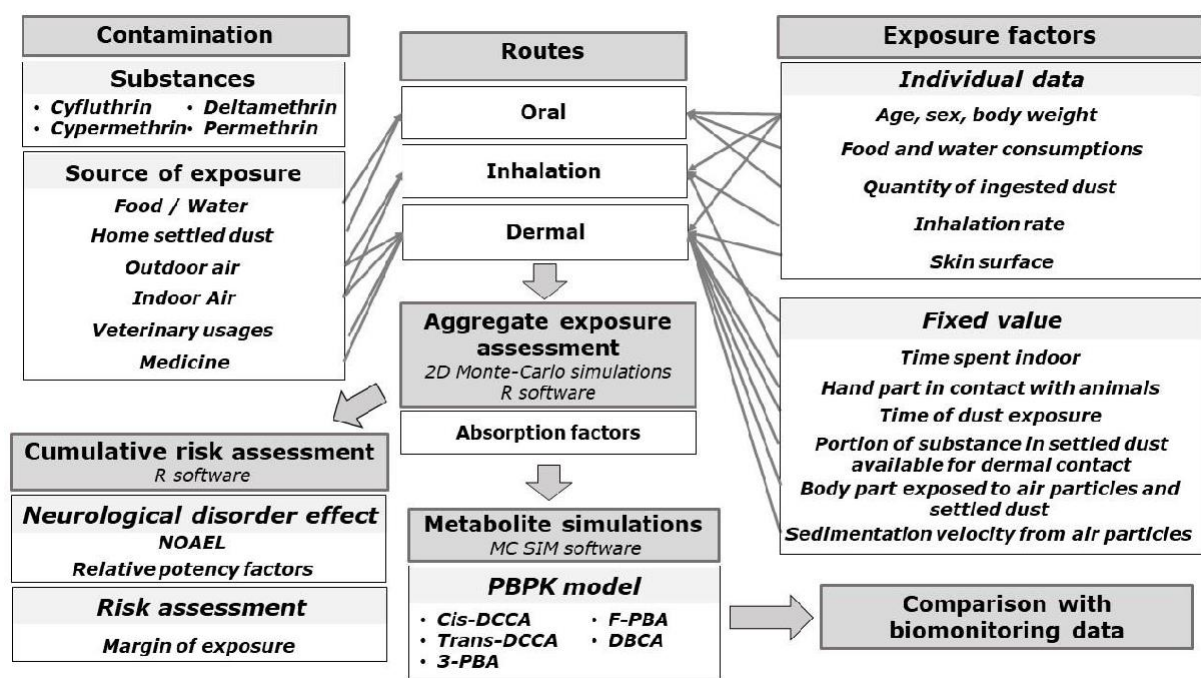


Figure 1. Concept map of the assessment of external aggregate and cumulative exposures and metabolite simulation of pyrethroids in French adult population.

Data used for external and internal exposures

INCA2 survey

The population used to simulate French adults was the adults from the second “Individual and National Study on Food Consumption” (INCA2). This survey was carried out by the French Food Safety Agency between late 2005 and April 2007 to assess food intake in a nationally representative sample of French population. Two independent subpopulations were surveyed using a multistage cluster sampling technique including on one side 1455 children aged between 3 to 17 years old (LioRET *et al.*, 2010) and on the other side, 2624 adults (1087 men and 1537 women) aged between 18 to 79 years old (Dubuisson *et al.*, 2010). Participants were selected using a three-stage random design stratified by region of residence, size of urban area, and population group (adults and children). A summary of the data collected is presented in Table 1.

ENNS survey

The metabolite concentrations calculated from INCA2 data were compared to the urinary concentrations measured during the French Nutrition and Health Survey (ENNS study) (Fréry *et al.*, 2011). The ENNS study was conducted from 2006-2007 by the French Institute for Public Health Surveillance (InVS) in adults aged between 18 and 74 years old (Fréry *et al.*, 2013; Fréry *et al.*, 2011). This cross-sectional study was focused on the biomonitoring of the French population and its exposure to chemicals of the environment by collecting a description of anthropometric, demographic and socioeconomic characteristics, dietary intake, physical activities, pesticide uses, and biological samples. For the analysis of pyrethroid metabolites, samples of the first morning urine were collected in a sub-sample of 396 adults. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of each metabolite were of 0.03 µg.L⁻¹ and 0.1 µg.L⁻¹ in the urine, respectively. F-PBA was detected in 29.8% of individuals, *cis*-DCCA in 56.1%, *trans*-DCCA in 86.1%, DBCA in 83.1%, and 3-PBA in 98.5% (Fréry *et al.*, 2013).

Pyrethroid concentrations in the different media

In food

The concentration of pyrethroids in food, $C_{\text{food},i}$, come from the monitoring programs done by the French ministries in charge of consumer affairs, agriculture and health between 2010 and 2014. In total, 8196 food samples for cyfluthrin, 7735 food samples for cypermethrin, 8027

food samples for deltamethrin and 7077 food samples for permethrin were analysed after random selection. Depending of the pyrethroid, the LODs varied between 0.7 and 40 ng/g and the LOQs between 1.26 and 50 ng/g. A summary of the data collected is presented in Table 1.

In home settled dust

Concentrations of pyrethroids in home settled dust $C_{\text{dust};i}$ were measured in dwellings between 2008 and 2009 across France. The method was already described in Mandin *et al.* (2014). Briefly, dust samples were collected with household vacuum cleaner bags and were frozen at -18 °C. Dust from vacuum cleaner bags used for vacuuming the fireplace or the outdoor terrace, as reported by the household, were discarded. Before analysis, samples were sieved at 100 µm. Pyrethroids were analyzed by pressurized liquid extraction with dichloromethane and gas chromatography/mass spectrometry (Mercier *et al.*, 2014). Depending of the pyrethroid, the LODs varied between 5.3 ng/g and 26 ng/g and the LOQs between 12.3 and 66 ng/g. In total, 145 concentrations of settled dust were took into account with their sampling weight. A summary of the data collected is presented in Table 1.

In indoor air in French dwellings

The indoor concentration of each pyrethroid $C_{\text{ind};i}$ (ng/m³) was the sum of the concentration in the particulate phase (PM10_{ind;i}) and the concentration in the gas phase (Gas_{ind;i}, equation 1).

$$C_{\text{ind};i} = \text{PM10}_{\text{ind};i} + \text{Gas}_{\text{ind};i} \quad \text{Eq (1)}$$

Concentrations of permethrin in the particulate phase were measured in a sample of 285 dwellings selected and representing the French housing stock using sampling weight (Mandin *et al.*, 2016). PM10 were collected through active sampling on Teflon filters over 7 day in the living-room and then analysed by gas chromatography/tandem mass spectrometry (GC/MS/MS) (Mercier *et al.*, 2012). 22% of samples not detected with a LOD of 20.9 pg/m³, 24% of samples were not detected but quantified (LOQ of 41.8 pg/m³).

The concentration of permethrin in gas phase was retrieved from the Blanchard *et al.* (2014). Samples were collected in 30 dwellings between December 2010 and April 2011 in Brittany, Western France. Airborne particles and gas phase were sampled using a URG personal pesticide sampler (University Research Glassware, Chapel Hill, NC). Airborne particles were collected on 25-mm quartz fiber filters (Whatman QMA) and gas phase was trapped by a polyurethane foam (PUF) plug (22 mm diameter × 76 mm length) encased in a glass holder (Blanchard *et al.*, 2014).

For cyfluthrin, cypermethrin and deltamethrin, concentrations were simulated using uniform distributions established from the proportion of detected and quantified observations in two studies (ANSES, 2010; Blanchard *et al.*, 2014). Concentration from ANSES (2010) were observed from 8 dwellings monitored in 2004-2005 in the North of France. Both gas and particulate phases were sampled in the living-room at a flowrate of 3.6 L.min⁻¹ during 7 days. A summary of the data collected is presented in Table 1.

In outdoor air

Pyrethroid concentrations in outdoor air were collected from the regulatory monitoring network for air quality in almost all France region. An important investigation was done to look for the concentrations of pyrethroids among reports of the air quality monitoring network. The pyrethroid concentrations outside homes $C_{out,i}$ (ng.m⁻³) were simulated from measurements performed across France. Only three surveys quantified the target pyrethroids in outdoor air (AirPACA, 2015; AIRPARIF, 2016; Lig'Air, 2014). Thus, concentrations pyrethroids in air outside dwellings of individuals living in these three specific regions (Centre, Ile-de-France and PACA regions) were simulated accorded to these reports. For the individuals living in the other regions of France, no value of pyrethroid was quantified. The report of AirPACA (2015) was the publication the most complete where values were ranged in different scale of ng.m⁻³. Proportions of each range were evaluated following four years of sampling (2012 to 2015). However, cyfluthrin concentration was not evaluated in the PACA region. Only one report (Lig'Air, 2014) recorded a concentration value of cyfluthrin at 1.77 ng.m⁻³ in the Centre region in France in 2013. A summary of the data collected is presented in Table 1.

In pets treated with pyrethroids for veterinary purpose

Permethrin is a molecule used in several veterinary products in order to control external parasites. Veterinary uses were selected only for dogs as permethrin is toxic for cats. Deltamethrin was observed in one collar product, but the concentration on pets (0.04 mg/kg) and its transfer to human skin was considered as insignificant. In 2012, 21.3% of French dwellings had at least one dog (ANSES, 2015). Thus, 21.3% of individuals were considered to be contaminated by animals by integrating the percentage of each category products. In France, 84 veterinary products for dogs containing permethrin are authorized by the French Agency for Veterinary Medicinal Product (ANMV) on a total of 451 products available on the market (<http://www.ircp.anmv.anses.fr/>). Lastly, there are different categories of use (ANSES, 2010): 39% of French people with animals used collar, 25% used spot-on, 14% used aerosol and

cutaneous spray and 9% used shampoo. For each category, the percent of product containing permethrin was considered with the recommendations of dose to apply on the animal in mg/kg of body weight (Table S1 in Supplementary Data). All concentrations values were uniformly distributed between the minimum and the maximum values. A summary of the data collected is presented in Table 1.

In medicine usage

The Anses report (2010) listed 15 products for human use to eliminate external parasites such as lice, scab or tick, where 7 products among them contain permethrin. The list cited in the publication was created from the dictionary VIDAL, which permits to identify products use in pharmacology authorized in France (www.vidal.fr). Today, only three drugs containing permethrin are mentioned, which two of them were no longer marketed from 2013 (PYREFLOR shampoo) and 2016 (PARA PLUS cutaneous spray). Thus, only one drug containing permethrin is currently commercialized: the cream TOPISCAB 5%. This product is used against scabies. The dosage recommends the application of the whole tube of cream of 30g in two times for a period from 7 to 14 days during 8 hours without rinsing. The product contains 5g of permethrin for 100g of cream, which correspond of 1.5g of permethrin in the tube of 30g. As the standard skin surface of an adult is 1.73 m², the concentration of the permethrin took in account in the product was 0.867 g/m². The occurrence of scabies in France was estimated of 328 cases for 100,000 individuals (Bitar *et al.*, 2012). A summary of the data collected is presented in Table 1.

Exposure factors

Quantity of consumed food

The consumed quantities of each individual j $C_{\text{food},i}$ were recorded in the INCA2 study on 7 days where portion sizes were estimated through photographs (Hercberg *et al.*, 1994) and lead to the collection of 1280 food items. Sociodemographic data of each individual were recorded in the survey, including the age, the sex and the body weight (BW). A summary of the data collected is presented in Table 1.

Quantity of ingested dust

The quantity of ingested dust for each individual $Q_{\text{dust},j}$ (mg/kg) were simulated with lognormal distributions (Özkaynak *et al.*, 2011) and truncated between 0 and 1000 following the

recommendations from the Exposure Factors Handbook (U.S. EPA, 2011a). A summary of the data collected is presented in Table 1.

Daily inhalation rate

The daily inhalation rate IR_j in $m^3 \cdot day^{-1}$ was calculated for each individual from the equation (11) (Hermant *et al.*, 2017). In the equation, parameters were issued from the exposure factors handbook (2011a) with U the oxygen uptake of $0.05 m^3 \cdot MJ^{-1}$, VQ the ventilation equivalent equal to 27 (unitless), and A the ratio of the total energy expenditure to the basal metabolic rate BMR depending of the sex (male: 1.59, female: 1.38). BMR of each individual in $MJ \cdot day^{-1}$ was estimated from the body weight in kg and the body size in cm with three constants a , b and c depending on sex and age (EFSA, 2013):

$$IR_j = BMR_j \times U \times VQ \times A \quad Eq (2)$$

$$BMR_j = aBW_j + bBS_j + c \quad Eq (3)$$

A summary of the data collected is presented in Table 1.

Skin surface

The skin surface of the individual j S_j was estimated directly from the body weight BW_j and the body size BS_j following the equation 4 of Dubois and Dubois (1916).

$$S_j = 0.007184 \times BW_j^{0.425} \times BS_j^{0.725} \quad Eq (4)$$

A summary of the data collected is presented in Table 1.

Aggregate exposure from different sources and routes

The different sources and routes of exposure to the four pyrethroids were identified by literature review (scientific articles and national reports from agency). The exposure to these pyrethroids can arise by three routes: ingestion, inhalation and dermal route and several sources. The aggregate exposure of each pyrethroid was calculated following the equation 1 by the sum of each exposure route (ingestion, inhalation and dermal contact) with an absorption level of 100% for ingestion and inhalation. The absorption value of 5% was estimated for dermal contact as recommended by the U.S. EPA (2011b) in the case of pyrethroid exposure assessment.

$$E_{Aggregate,x} = E_{Oral_{ij}} \times Abs_{Oral} + E_{Inh_{ij}} \times Abs_{Inh} + E_{Cut_{ij}} \times Abs_{Cut} \quad Eq (5)$$

Oral route

Ingestion exposure $E_{Oral_{ij}}$ of each pyrethroid i and each individual j expressed in $ng.kg^{-1} bw.d^{-1}$ was estimated by the addition of the dietary exposure $E_{Oral_{Dietary;ij}}$ and the dust ingestion exposure $E_{Oral_{Dust;ij}}$ (equation 6).

$$E_{Oral_j} = E_{Oral_{Dietary;j}} + E_{Oral_{Dust;j}} \quad Eq (6)$$

Dietary exposure

The external dose exposure by dietary ingestion $E_{Oral_{Dietary;ij}}$ ($ng.kg^{-1}.d^{-1}$) was calculated following the equation (7)

$$E_{Oral_{Dietary;ij}} = \sum_{i \in food} C_{food;i} \times Q_{food;j} / BW_j \quad Eq (7)$$

where $Q_{food,j}$ is the consumed quantity of food and BW_j the body weight (kg) of each individual j ; $C_{food,i}$, the concentration of the pyrethroid in food i .

Home settled dust ingestion exposure

The exposure by dust ingestion $E_{Oral_{Dust;ij}}$ ($ng.kg_{bw}^{-1}.d^{-1}$) was evaluated following the equation (8) with $Q_{dust,j}$ the quantity of ingested home dust for each individual (mg/kg), and $C_{dust;i}$ the concentrations of pyrethroids in home settled dust (ng/g).

$$E_{Oral_{dust;ij}} = \frac{C_{dust;i} \times Q_{dust,j} \times 10^{-3}}{BW_j} \quad Eq (8)$$

Inhalation route

External dose by inhalation for each pyrethroid i and the individual j ($E_{Inh_{ij}}$) expressed in $ng.kg_{bw}^{-1}.d^{-1}$ was evaluated following the equation (9) and took in account the concentrations of pyrethroids in the indoor air $C_{ind;i}$ and outdoor $C_{out;i}$ (ng/m^3) dwellings, the time spent indoor T_{ind} (%) and the daily inhalation rate IR_j in $m^3.day^{-1}$. The time spent indoor T_{ind} was evaluated from the recommendations of U.S. EPA in the exposure factors handbook (2011a).

$$E_{Inh_j} = \frac{(C_{ind;i} \times T_{ind} + C_{out;i} \times (1 - T_{ind})) \times IR_j}{BW_j} \quad Eq (9)$$

Dermal route

Dermal exposure (ECut_{ij}) expressed in ng.kg⁻¹ bw.d⁻¹ was evaluated as the addition of the different sources of skin exposition (dust, air, pets treated and medicine products).

$$ECut_{ij} = ECut_{dust;ij} + ECut_{air;ij} + ECut_{pets;ij} + ECut_{medicine;ij} \quad Eq (10)$$

To assess each exposure, S_j is the skin surface of the individual j (m²), f_{skin} the fraction of the body which is exposed (unitless). Depending of the media, several input parameters were took into account in the calculation of the dermal exposure.

$$ECut_{dust,ij} = \frac{f_{dust} \times M_{adust} \times C_{dust;i} \times S_j \times \frac{t_{dust}}{\text{Number of hours in one day}} \times f_{skin}}{BW_j} \quad Eq (11)$$

$$ECut_{air,ij} = \frac{(vp \times C_{ind;i} \times S_j \times f_{skin} \times t_{ind}) + (vp \times C_{out;i} \times S_j \times f_{skin} \times (1-t_{ind}))}{BW_j} \quad Eq (12)$$

$$ECut_{animal,ij} = \frac{C_{animal;i} \times 10^6 \times p_{hands}/100 \times S_j \times f_{hands_{animal}} \times \frac{t_{animal}}{\text{Number of minutes in one day}}}{BW_j} \quad Eq (13)$$

$$ECut_{medicine,ij} = \frac{C_{scabies;i} \times 10^9 \times S_j \times f_{skin} \times \frac{t_{scabies}}{\text{Number of hours in one day}}}{BW_j} \quad Eq (14)$$

Table 1. Summary of input variables used for the calculation of aggregate exposure of pyrethroids in French adult population aged from 18 to 79 years old. ED: Empirical data, FV: Fixed value, LN: lognormal distribution, N: normal distribution, U: uniform distribution. Estimated with the value from INCA2 with the equation issued of EFSA (2013) and U.S. EPA (2011a). Data were collected from literature, reports of air control centre (see Table S2 in Supplementary Data) or with different veterinary products (see Table S1 in Supplementary Data).

Parameter	Symbol	Routes	Ref.	Distrib.	<u>Fixed value</u>	Mean ± SD	Min - Max	P5	P25	P50	P90	P95	LOD (>%)	LOQ (>%)
Individual exposure factors														
Body Weight (Kg)														
Male	BW	all	INCA2	ED		78 ± 13	48 - 171	60	70	77	94	102		
Female				ED		64 ± 13	35 - 155	47	55	62	81	89		
Size (m)														
Male	BS	Inhalation / Dermal	INCA2	ED		1.75 ± 0.07	1.55 - 2.02	1.63	1.7	1.75	1.84	1.87		
Female				ED		1.62 ± 0.06	1.42 - 1.93	1.52	1.58	1.62	1.70	1.73		
Skin surface (m²)														
Male	S	Dermal	INCA2	ED		1.93 ± 0.17	1.47 - 2.38	1.68	1.82	1.92	2.14	2.23		
Female				ED		1.68 ± 0.17	1.18 - 2.52	1.45	1.57	1.66	1.89	1.97		
Basal metabolic rate (MJ/day)														
Male	BMR	Inhalation	INCA2 ¹	ED		7.05 ± 0.76	5.11 - 11.70	5.95	6.53	7.00	8.02	8.36		
Female				ED		5.51 ± 0.55	3.98 - 9.78	4.75	5.15	5.46	6.21	6.50		
Inhalation rate (m³/day)														
Male	IR	Inhalation	INCA2 ²	ED		15.1 ± 1.6	11.0 - 25.1	12.8	14.0	15.0	17.2	17.9		
Female				ED		10.3 ± 1.0	7.4 - 16.4	8.9	9.6	10.2	11.6	12.1		
Quantity of food	Q _{food}	Ingestion	INCA2	ED										
Quantity of ingested dust														
Adult <21 years old	Q _{dust}	Ingestion	U.S. EPA (2011a)	LN			0 – 1,000			60		100		
Adult >21 years old				LN			0 – 1,000			30		100		

Concentrations	Symbol	Routes	Ref.	Distrib.	Fixed value	Mean ± SD	Min - Max	P5	P25	P50	P90	P95	LOD (>%)	LOQ (>%)
Concentration in food (ng/g)														
<i>Cyfluthrin</i>	C _{food}	Ingestion	Monitoring programs of French ministries	ED			16 - 44						0.7-40	4-50 (0.04%)
<i>Cypermethrin</i>				ED			11 - 16,400						0.7-8	3.4-50 (0.66%)
<i>Deltamethrin</i>				ED			10 – 1,500						0.6-8	1.3-20 (0.45%)
<i>Permethrin</i>				ED			47- 49						0.7-8	4-10 (0.03%)
Concentration in home dust (ng/g)														
<i>Cyfluthrin</i>	C _{dust}	all	Mandin <i>et al.</i> (2014)	ED		52 ± 219	0 – 2,084	<LOD	<LOD	<LOD	59	258	5.3 (49%)	13.2 (23%)
<i>Cypermethrin</i>				ED		937 ± 2,593	0 – 24,681	<LOD	<LOD	202	2,373	3,713	10.5 (69%)	26.3 (69%)
<i>Deltamethrin</i>				ED		2 48 ± 2,155	0 – 25,248	<LOD	<LOD	14	66	138	13.2 (54%)	26.3 (22%)
<i>Permethrin</i>				ED		22,130 ± 140,106	0 - 1643,105	236	542	1,376	24,761	40,320	26 (97%)	66 (97%)
Concentration in particulate phase (indoor) (ng/m³)														
<i>Cyfluthrin</i>	PM10 _{ind}	Inhalation / Dermal	ANSES (2010)	U			0 - 1.6						0.25 (29%)	0.65 (14%)
<i>Cypermethrin</i>			Blanchard <i>et al.</i> (2014)	U			0 - 0.28							0.2 (3%)
<i>Deltamethrin</i>			ANSES (2010)	U			0 - <0.25						0.25 (0%)	
<i>Permethrin</i>			Mandin <i>et al.</i> (2016)	ED		2.33 ± 29.9	0.01 - 502	<LOD	<LOD	<LOD	1.12	1.91	0.22 (76%)	0.42 (54%)
Concentration in gas phase (indoor) (ng/m³)														
<i>Cyfluthrin</i>	GAS _{ind}	Inhalation / Dermal	ANSES (2010)	U			0 - 2.24						0.25 (29%)	0.65 (14%)
<i>Cypermethrin</i>			Blanchard <i>et al.</i> (2014)	U			0 - <0.6							0.6 (0%)
<i>Deltamethrin</i>			ANSES (2010)	U			0 - <0.25						0.25 (0%)	
<i>Permethrin</i>			Blanchard <i>et al.</i> (2014)	U			0 - <0.6							0.6 (0%)
Concentration in outdoor air (ng/m³)														
<i>Cyfluthrin</i>	C _{out}	Inhalation /Dermal	Literature ³	U			0 - 1.77							0.071 (7%)
<i>Cypermethrin</i>				U			0 - 0.1						0.005 (7%)	
<i>Deltamethrin</i>				U			0 - 0.1						0.016 (0.3%)	
<i>Permethrin</i>				U			0 - 1						0.007 (8%)	0.05 (3%)
Concentration on pets skin after treatment (mg/m²)														
<i>Permethrin</i>	C _{animal}	Dermal	Literature ⁴	U			0 – 11,110							

Concentration on human skin after medical treatment (g/m²)

Permethrin	C _{scabies}	Dermal	VIDAL	U	0 - 0.867
------------	----------------------	--------	-------	---	-----------

Other Factors	Symbol	Routes	Ref.	Distrib.	Fixed value	Mean ± SD	Min - Max	P5	P25	P50	P90	P95	LOD (>%)	LOQ (>%)
Time spent indoor (%)														
Adult <21 years old	T _{ins}	Inhalation / Dermal	U.S. EPA (2011a)	FV	86.7									
Adult > 21 and < 65 years old				FV	80.5									
Adult > 65 years old				FV	79.3									
Fraction of pyrethroid concentration in home dust which is available for dermal contact (unitless)	f _{dust}	Dermal	Beko <i>et al.</i> (2013)	FV	0.15									
Quantity of dust adherent to the skin (g/m²)	Mad _{dust}	Dermal	Beko <i>et al.</i> (2013)	FV	0.96									
Time of home dust exposure (hour)	t _{dust}	Dermal	Hermant <i>et al.</i> (2017)	FV	24									
Sedimentation velocity from air particles to the skin (m/hour)	vp	Dermal	Hermant <i>et al.</i> (2017)	FV	2.15									
Fraction of body which is exposed														
Male	f _{skin}	Dermal	U.S. EPA (2011a)	FV	0.63									
Female				FV	0.67									
Time spent for animal care (minutes/day)														
18 to 64 years old	t	Dermal	U.S. EPA	N		45.9 ± 66.6	1 - 760			30	109	150		
> 64 years old	animal		(2011a)	N		54.8 ± 64.5	1 - 383			30	135	180		
Percentage of hands in relation to the total skin area														
< 21 years old	P _{hands}	Dermal	U.S. EPA (2011a)	FV	4.5									
Male > 21 years old				FV	5.2									
Female > 21 years old				FV	4.8									
Fraction of hands which is in contact with animals	f _{hands}	Dermal	U.S. EPA (2011a)	N		0.18	0.02 - 0.27			0.2	0.26	0.26		

Period of cream application (h)	t _{scabies}	Dermal	VIDAL	FV	8
---------------------------------	----------------------	--------	-------	----	---

Comparison with metabolites using PBPK model

The global PBPK model developed by Quindroit *et al.* (2019) was used to predict the concentrations of pyrethroids' metabolites in urine. The global PBPK model links the external exposure to the four pyrethroids and their isomers (*cis* and *trans*-permethrin, *cis* and *trans*-cypermethrin, *cis* and *trans*-cyfluthrin and deltamethrin) to the urinary concentrations of some of their common metabolites: *cis* and *trans*-DCCA, F-PBA, DBCA and 3-PBA. These five metabolites are usually measured in biomonitoring studies. Only DBCA is specific to one pyrethroid, namely deltamethrin. F-PBA is specific to cyfluthrin but can be formed from the two isomers (*cis* and *trans*-cyfluthrin). *Cis* and *trans*-DCCA can be formed respectively from the *cis* and *trans* isomers of permethrin, cypermethrin and cyfluthrin. The metabolite 3-PBA is common to the four pyrethroids and their isomers, and can also be generated from other pyrethroids (Starr *et al.*, 2008).

Exposure through inhalation, oral and dermal contact was considered (Figure 2) and the model was run until the steady-state in blood was achieved (*i.e.* 1 month). Truncated normal distributions were assigned to the compound-specific parameters (absorption, metabolism, partition coefficients, permeability coefficients, urinary excretion) with the mean value and a coefficient of variation of 30%.

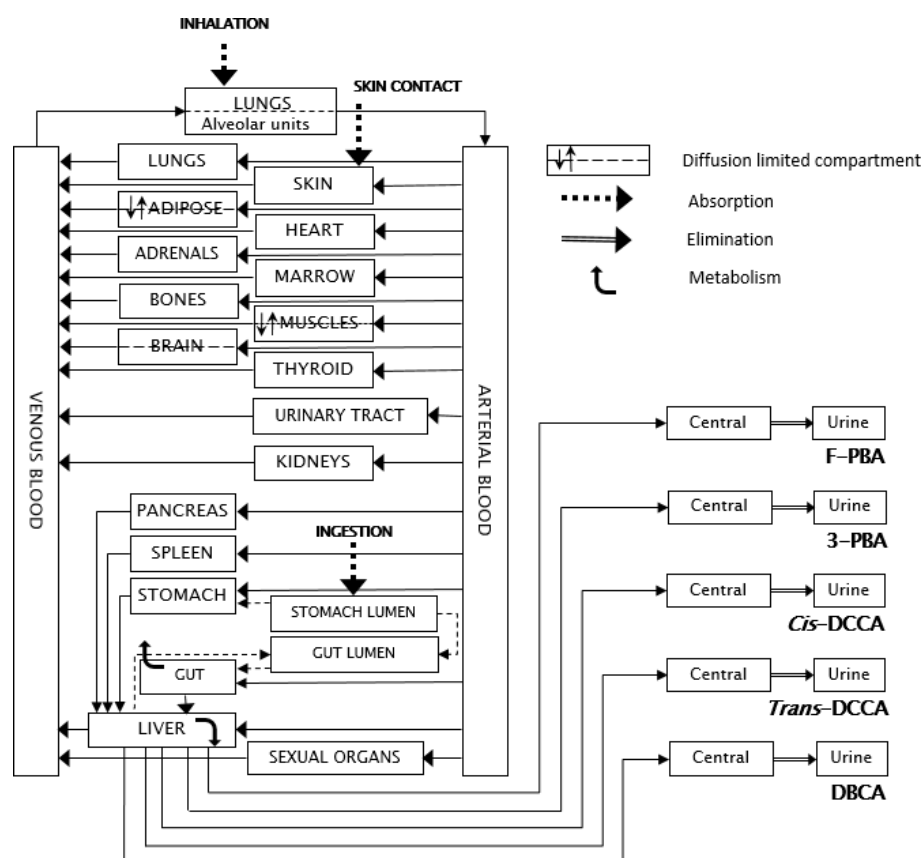


Figure 2. global PBPK model for pyrethroids and their metabolites F-PBA, DBCA, 3-PBA and cis and trans-DCCA from Quindroit et al. (2019).

For the PBPK model, the uncertainty was simulated by the lower and upper bounds defined as 0.01% and 100% of the mean value (except for fractions of metabolites that are truncated at 1). For each simulation, a vector of random parameter values was drawn from the probability distribution functions and was used as input of the global PBPK model.

Cumulative exposure and risk assessment

To cumulate exposure of pyrethroids, the aggregate exposure to each pyrethroid was added using relative potency factors (RPF). The RPF approach makes it possible to convert exposures of the different substances in the toxicity of a reference substance in dividing the dose of the studied effect of a reference substance by the dose of the studied effect for each substance of the mixture (U.S. EPA, 2011b). The RPF was calculated from the no-observed-adverse-effect levels (NOAELs) of the sum of isomers for each substance. All NOAELs are based on long-term toxicity studies in rats from oral exposure leading to several damages in the body with a common effect of significant neurological disorders (EFSA recommendations, Commission

Regulation (EEC) No 3600/92). NOAEL values were equal to 2 mg.kg_{bw}⁻¹.d⁻¹ for cyfluthrin, at 0.5 mg.kg_{bw}⁻¹.d⁻¹ for cypermethrin and to 1 mg.kg_{bw}⁻¹.d⁻¹ for deltamethrin. From the FAO/WHO report, the NOAEL of 5 mg.kg_{bw}⁻¹.d⁻¹ was observed for permethrin for the same effect (JMPR, 1999). As recommended by the U.S. EPA due to its strong neurological effect (U.S. EPA, 2011b), and as used in previous studies (Jardim *et al.*, 2018; Quijano *et al.*, 2016; Xue *et al.*, 2014) deltamethrin was chosen as the index chemical with an RPF of 1 and the other pyrethroids were normalized by it.

Thus, the RPF of each pyrethroid was calculated by the NOAEL of deltamethrin divided by the NOAEL of each pyrethroid (x) with the equation (15).

$$RPF_x = NOAEL_{\text{deltamethrin}} / NOAEL_x \quad \text{Eq (15)}$$

$$E_{\text{cumulative}} = \sum_x (E_{\text{aggregate},x} \times RPF_x) \quad \text{Eq (16)}$$

$$MOE = NOAEL_{\text{deltamethrin}} / E_{\text{cumulative}} \quad \text{Eq (17)}$$

Consequently, the RPF values were equal to 0.5 for cyfluthrin, 2 for cypermethrin, 1 for deltamethrin and 0.2 for permethrin. To estimate the cumulative exposure, the aggregate exposure of each pyrethroid multiplied by the RPF was summed (Eq. 16) assuming that RPF and thus NOEAL estimated from oral exposure can be applied, as proposed by U.S. EPA (2011b), to inhalation and dermal routes considering absorption factors of 100% and 5%, respectively. Then, the risk was estimated in calculating the margin of exposure (MOE) by dividing the NOAEL of the deltamethrin by the cumulative exposure of the four pyrethroids $E_{\text{cumulative}}$ for each individual, (Eq. 17). If the MOE is lower than 100, there is a risk that pyrethroids cause several damage in the body with significant neurological disorders.

Simulation process

The scenarios proposed by EFSA (2012) were applied in the case of censored values. The optimistic scenario consists in replacing values by the lower limit, *i.e.* zero when values were below the LOD, or below the LOQ n the case only LOQ was reported. If values were comprised between LOD and LOQ, they were replaced by the LOD. In contrast, in the pessimistic scenario, all uncertainties were handled worst case and values were replaced by the upper limit, *i.e.* the LOD or the LOQ. As EFSA optimistic and pessimistic approaches were considered to underestimate and to overestimate the risk, respectively, a third intermediate scenario, a refine scenario, was took into account. At the difference of a usual intermediate scenario, the refine

scenario was here developed in the EuroMix project (Boon *et al.*, 2015), focusing on the imputation of non-detects based on agricultural use patterns. In the case of dietary exposure, the real patterns of agricultural use for non-detects are not known, but can be estimated on the monitoring data. The proportion of quantified data were applied to replace the same proportion of non-detect values by $(LOD+LOQ)/2$ while the other non-detect values were left at zero. This process allow to leave true zeros values. Similar process was applied to non-dietary concentration data, where the proportion of quantified values were applied on the non-detect ones. The dietary exposures were estimated using the MCRA software (van der Voet *et al.*, 2015) following the three censored scenario.

To combine the different exposure sources *via* literature and empirical data, the method recommended by Vanacker *et al.* (2019 (In press)). This method defined a reference population, here the INCA2 survey to be representative of the target population and stratification variables, here age and region to combine surveys. To account for inter-individual variability, a population of 100,000 individuals was simulated by randomly sampling individuals in the reference population and simultaneously assigning exposure factors and concentration values from other surveys in using sampling weights. The uncertainty of external exposure was simulated by taking into account 100 runs of the simulated population.

The R-Shiny application RSExp developed by ANSES from the R software (R Core Team, 2017) was used to run Monte-Carlo simulations, to evaluate the sources of non-dietary exposures, aggregate exposure of each pyrethroid, cumulate the risk and to produce statistical analyses.

Results

Aggregate exposure

Significant differences in exposure concentrations were observed between the three censored scenarios (*i.e.*, optimistic, intermediate, and pessimistic) for aggregate exposures (Table 2, Figure 3). The pessimistic exposure can reach values approximately one hundred times higher than optimistic values especially for cyfluthrin (*e.g.* $0.443 \text{ ng.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ and $420 \text{ ng.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ for optimistic and pessimistic scenarios respectively).

For the 50% most exposed individuals, cypermethrin and deltamethrin were the substances the most important substance with the optimistic scenario especially *via* the oral route (Figure 3), with a median of 27.9 and $12.4 \text{ ng.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$, respectively for the both substances. For the refine scenario, cypermethrin and deltamethrin exposure values were nearly equivalent (*e.g.* $60.3 \text{ ng.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ and $57.2 \text{ ng.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ respectively), followed by permethrin with a median exposure of $33.8 \text{ ng.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$ and then cyfluthrin. Except for permethrin, no exposure values were recorded with the optimistic and refine scenarios for the inhalation route. For the pessimistic scenario, oral and inhalation exposures between substances were nearly similar. For the dermal route, permethrin were higher than the other substances (*e.g.* $17.9 \text{ ng.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$), and the exposure of deltamethrin was significantly lower.

For the 5% most exposed individuals, cypermethrin, deltamethrin and permethrin have the three exposure values nearly equivalent (Table 2). Exposure values for cyfluthrin were significantly lower than the other substances with the optimistic and refine scenarios. More specifically for the most individuals, exposure values for the dermal route between substances were nearly similar between the three scenarios. This is also the case for the inhalation route for cyfluthrin and permethrin. For the oral route, cypermethrin, deltamethrin and permethrin were the three substances where exposures were nearly equivalent between the three scenarios. Exposure cyfluthrin for the oral route, was significantly lower than the other substances for the optimistic scenario. Exposure values of permethrin for the dermal route were also significantly higher than the other substances.

Considering the dietary exposure and the refine scenario, all the four pyrethroids were mainly found in milk cattle, but depending of the substance, some were also observed in meats, cereals, fruits and one vegetable, the cauliflower (Table S3 in Supplementary Data).

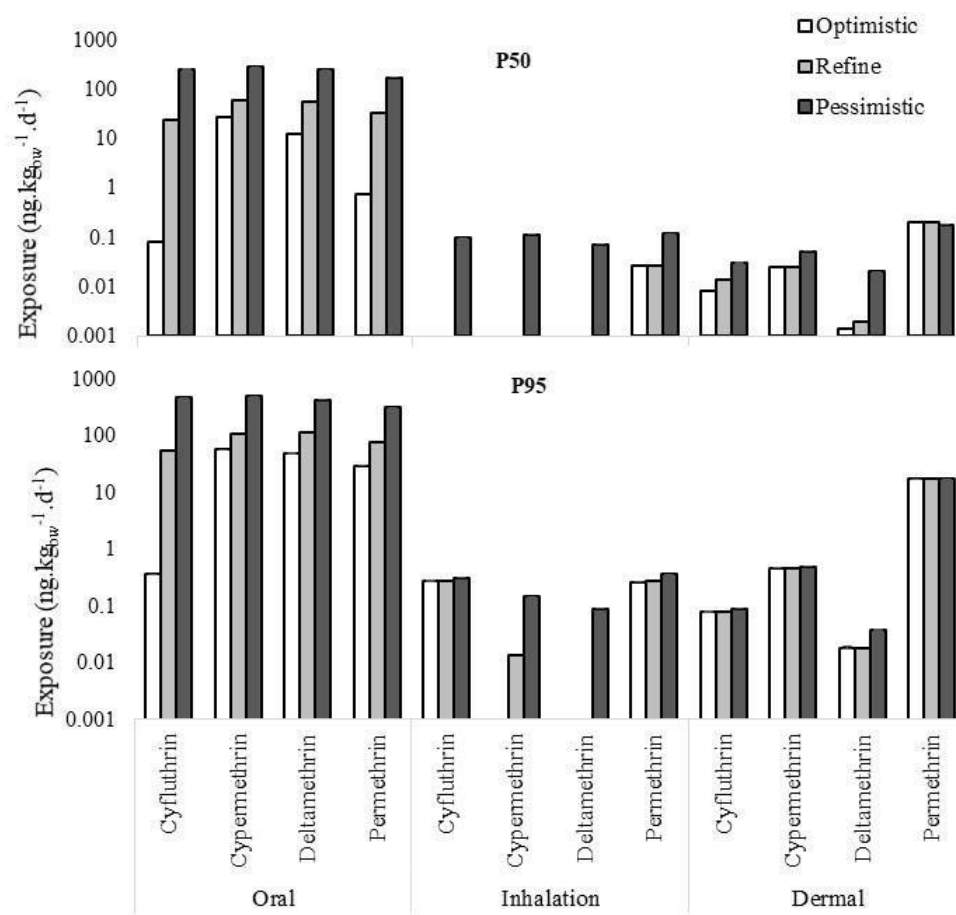


Figure 3. Exposure of the French population to pyrethroids (50th and the 95th percentiles; $\text{ng.kg}_{\text{bw}}^{-1}.\text{d}^{-1}$) according to routes of exposure and scenarios to manage censored values.

Table 2. Descriptive statistics of **aggregate exposures** of each pyrethroid ($\text{ng.kg}_{\text{bw}}^{-1}.\text{d}^{-1}$) in adults aged from 18 to 79 years old in France. Estimates given by the median and the confidence interval of 95% in square brackets according to the three censored scenarios.

Substance	Scenario	Mean	SD	P5	P25	P50	P75	P90	P95	P99
Cyfluthrin	Optimistic	0.213 [0.211-0.214]	0.247 [0.238-0.258]	0.017 [0.017-0.018]	0.072 [0.07-0.072]	0.148 [0.147-0.150]	0.289 [0.287-0.291]	0.443 [0.441-0.446]	0.560 [0.555-0.565]	1.04 [1.01-1.07]
	Refine	26.9 [26.8-27.0]	16.0 [15.9-16.1]	6.81 [6.77-6.85]	14.9 [14.8-15.0]	24.2 [24.1-24.3]	36.2 [36.0-36.3]	47.8 [47.7-47.9]	55.9 [55.7-56.0]	75.2 [73.6-76.0]
	Pessimistic	267 [268-270]	115 [114-116]	111 [108-112]	187 [186-187]	255 [255-256]	335 [333-336]	420 [418-421]	471 [470-472]	630 [610-635]
Cypermethrin	Optimistic	30.2 [30.1-30.3]	15.0 [14.8-15.1]	11.4 [11.2-11.5]	20.2 [20.1-20.3]	27.9 [27.8-28.0]	37.3 [37.2-37.4]	48.2 [48.0-48.4]	56.5 [56.2-56.6]	77.3 [76.4-77.7]
	Refine	62.6 [62.4-62.7]	24.7 [24.6-24.9]	26.5 [26.3-26.7]	45.1 [45.0-45.3]	60.3 [60.1-60.5]	76.3 [76.0-76.6]	94.6 [94.2-94.9]	107 [106-108]	134 [134-134]
	Pessimistic	294 [293-295]	115 [115-116]	131 [130-132]	212 [211-213]	282 [281-283]	360 [359-360]	445 [443-445]	493 [492-496]	644 [642-648]
Deltamethrin	Optimistic	16.9 [16.7-17.0]	18.6 [18.3-18.9]	1.09 [1.07-1.11]	3.88 [3.75-3.93]	12.4 [12.3-12.5]	22.5 [22.3-22.8]	35.8 [35.7-36.1]	48.8 [47.7-49.8]	91.9 [91.9-93.0]
	Refine	61.0 [60.8-61.2]	29.6 [29.4-29.7]	22.0 [21.8-22.2]	41.0 [40.9-41.2]	57.2 [57.0-57.3]	75.7 [75.4-76.0]	97.3 [97.0-97.7]	113 [113-113]	156 [156-156]
	Pessimistic	257 [257-258]	98.2 [97.6-98.7]	111 [111-112]	189 [189-190]	249 [248-250]	315 [314-316]	385 [384-386]	423 [426-427]	535 [531-539]
Permethrin	Optimistic	167 [163-170]	2.046 [2.026-2.076]	0.177 [0.174-0.179]	0.488 [0.484-0.493]	1.13 [1.12-1.15]	5.43 [5.31-5.55]	22.7 [22.3-23.3]	71.6 [68.0-77.0]	1.832 [1.706-1.970]
	Refine	199 [195-202]	2.049 [2.033-2.071]	13.3 [13.2-13.4]	23.5 [23.4-23.6]	33.8 [33.7-34.0]	48.6 [48.3-48.8]	70.1 [69.5-70.7]	113 [109-117]	1.867 [1.749-2.022]
	Pessimistic	340 [337-343]	2.051 [2.033-2.071]	77.4 [76.9-78.1]	132 [132-132]	177 [176-177]	226 [226-227]	288 [286-289]	357 [352-359]	2.008 [1.889-2.151]

Estimation of urinary metabolite concentrations and relations to sources of external exposure

The refine scenario produced the closest metabolite concentrations to the ones of the ENNS population for all urinary metabolite concentrations (Figure 4). The optimistic scenario mainly underestimates the urinary concentrations of metabolites and the pessimistic overestimates them. For example, in the case of the 3-PBA, the urinary concentrations estimated by the PBPK model with the optimistic censored scenario are equal to $0.191 \mu\text{g.L}^{-1}$ and $0.399 \mu\text{g.L}^{-1}$ for the 50th and the 90th percentiles, respectively, while the respective measured urinary concentrations are of $0.580 \mu\text{g.L}^{-1}$ and $4.41 \mu\text{g.L}^{-1}$, meaning estimated values three and eleven times lower than measured ones for the 3-PBA. For the pessimistic scenario, the urinary concentrations are higher than the ENNS values with an estimation at $3.57 \mu\text{g.L}^{-1}$ and $6.58 \mu\text{g.L}^{-1}$ for the 50th and the 95th percentiles, *i.e.*, six and less than two times higher than the measurements. However, for the refine scenario, the model estimates the urinary concentration of the 3-PBA at $0.743 \mu\text{g.L}^{-1}$ for the 50th percentiles, *i.e.*, twice the value of the ENNS population, and at $1.51 \mu\text{g.L}^{-1}$ for the 95th percentile, *i.e.*, three times lower than the observed value.

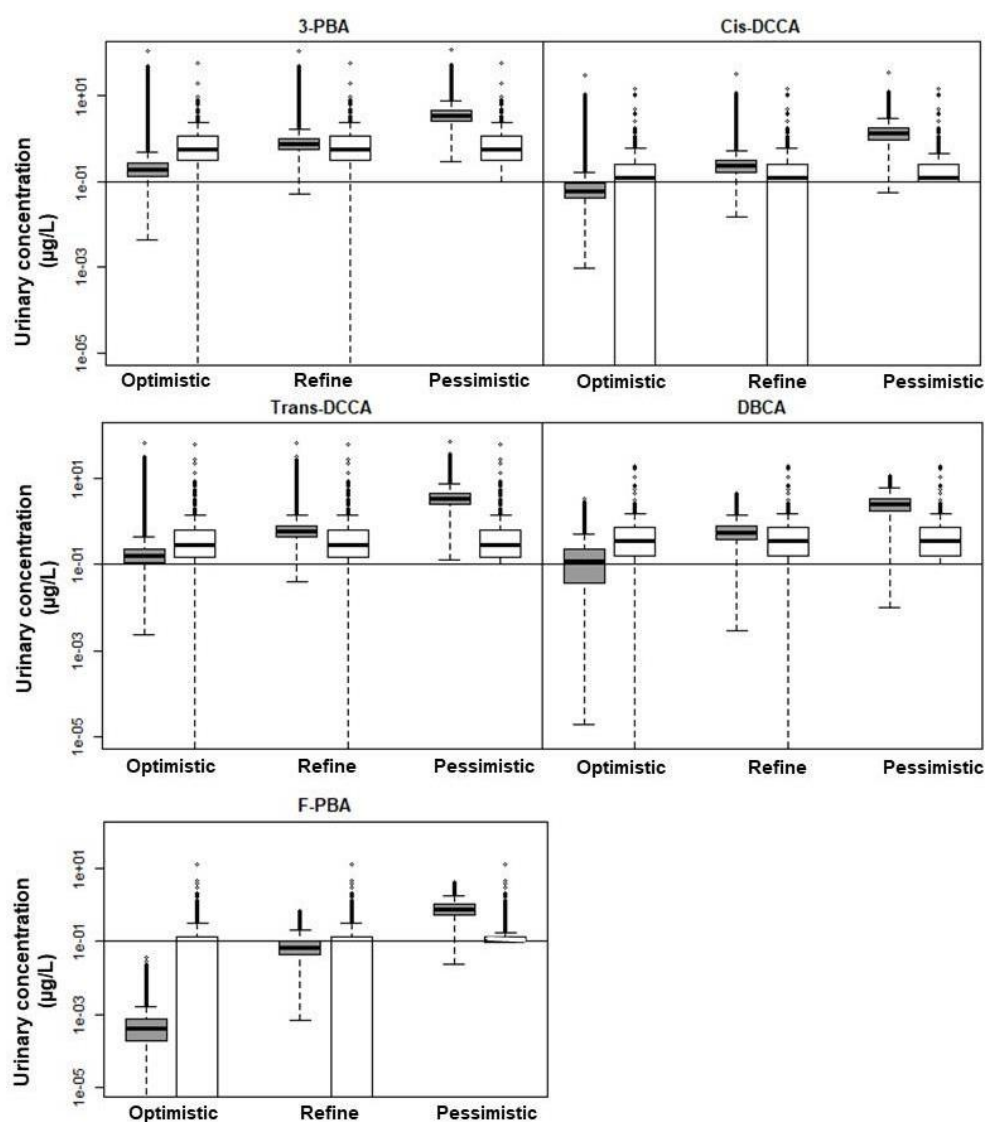


Figure 4. Comparison between modelled metabolite urinary concentrations ($\mu\text{g.L}^{-1}$, grey bars) and measured concentrations (white bars) according to the three censored scenarios: optimistic, refine and pessimistic. The horizontal black line represents the LOQ of $0.1 \mu\text{g.L}^{-1}$ used for the biomonitoring.

Looking at the correlations between the modelled urinary concentrations of metabolites and the sources of external exposure of the refine scenario, only the ingestion exposure and especially *via* food, significantly influences the most the concentrations of 3-PBA. As for 3-PBA, the ingestion exposure *via* the dietary intake is the main external source contributing to the urinary concentrations of the other metabolites (Table 3). For the DBCA, the urinary concentrations are highly correlated to the deltamethrin exposure, *via* food. For the *cis* and *trans*-DCCA, the urinary concentrations are significantly correlated to the exposure *via* food. The urinary concentrations of F-PBA are highly correlated with the exposures to cyfluthrin.

Table 3. Correlations between modelled metabolite urinary concentrations and aggregate exposure doses estimated with the refine scenario to manage censored values. Correlations in bold are considered as significant as: * moderate correlation (0.400 to 0.690), ** strong correlation (0.700 – 0.890), *** very strong correlation (0.900 – 1.00).

		3-PBA	DBCA	cis-DCCA	trans-DCCA	F-PBA
Aggregate exposure	Cyfluthrin	0.624*	0.381	0.676*	0.677*	0.847**
	Cypermethrin	0.602*	0.378	0.632*	0.642*	0.575*
	Deltamethrin	0.634*	0.721**	0.498*	0.507*	0.411*
	Permethrin	0.756**	0.464*	0.670*	0.681*	0.533*
Home settled dust	Cyfluthrin	-0.001	0.004	-0.002	0.000	0.002
	Cypermethrin	0.043	0.004	0.030	0.035	-0.002
	Deltamethrin	-0.017	0.009	-0.016	-0.016	-0.001
	Permethrin	0.200	-0.002	0.157	0.164	0.004
Dietary intake	Cyfluthrin	0.655*	0.412*	0.703**	0.704**	0.863**
	Cypermethrin	0.622*	0.412*	0.643*	0.654*	0.555*
	Deltamethrin	0.641*	0.746**	0.492*	0.502*	0.376
	Permethrin	0.749*	0.610*	0.668*	0.677*	0.639*
Oral route	Cyfluthrin	0.624*	0.381	0.676*	0.677*	0.848**
	Cypermethrin	0.602*	0.379	0.633*	0.642*	0.576*
	Deltamethrin	0.634*	0.721**	0.498*	0.507*	0.412*
	Permethrin	0.801**	0.499*	0.711**	0.723*	0.573*
Inhalation route	Cyfluthrin	-0.009	-0.004	-0.009	-0.007	-0.009
	Cypermethrin	-0.002	-0.001	-0.003	-0.001	-0.005
	Deltamethrin	-0.001	-0.001	0.000	0.001	0.001
	Permethrin	-0.013	-0.009	-0.011	-0.013	-0.022
Dermal route	Cyfluthrin	0.007	-0.002	0.007	0.009	0.003
	Cypermethrin	0.042	0.002	0.030	0.035	-0.002
	Deltamethrin	-0.019	0.005	-0.017	-0.018	0.000
	Permethrin	0.187	-0.005	0.148	0.155	0.004

Cumulative exposure by routes and sources and risk assessment

The median and the 95th percentile of the cumulative exposure was of 73.8 ng.kg⁻¹.d⁻¹ and 165 ng.kg⁻¹.d⁻¹ for the optimistic scenario, 202 and 368 ng.kg⁻¹.d⁻¹ for the refine scenario, and 453 and 1747 ng.kg⁻¹.d⁻¹ for the pessimistic scenario (Table 4). The substance contributions to cumulative exposure varied according to the censored scenario and the percentage of exposed adults (Table 5). Regardless the three scenarios, the inhalation route was totally negligible in comparison to the other sources for the whole population.

The oral route was the most important exposure route for all pyrethroids and for the three censored scenarios. For the 50% of the adults, the contribution of the oral route was higher than 95% for the three censored scenarios (Table 5). The oral contribution was especially due to the dietary ingestion source (more than 90%), and the other sources were considered as negligible in comparison. Especially, the cumulative of oral route exposure with the optimistic censored

scenario was observed at $72.2 \text{ ng.kg}^{-1} \text{bw}^{-1} \text{d}^{-1}$, at $199 \text{ ng.kg}^{-1} \text{bw}^{-1} \text{d}^{-1}$ with the refine scenario, and at $978 \text{ ng.kg}^{-1} \text{bw}^{-1} \text{d}^{-1}$ with the pessimistic scenario. Cypermethrin was the substance of the oral route contributing the most to the aggregate and cumulative exposure with an input of 72%, 58% and 56% in the optimistic, refine and pessimistic censored scenarios, respectively. The second main source of exposure for the optimistic scenario was the ingestion of deltamethrin with a mean contribution of 22%, 29% and 25% for the three scenarios, mainly due to the food

The contribution of dermal route in the cumulative exposure was lower in comparison to ingestion, *i.e.*, equal to 4.1%, 2.8% and 1.4% for the three scenarios, respectively, and was mainly due to permethrin. However, the contributions of permethrin greatly increased in high exposure levels and reached 29%, 21% and 9.1% for the three scenarios, respectively, due to the increase of contribution of veterinary products sources (21%, 14% and 3.3% for three censored scenarios) and medicine products sources (near to 6% for the three scenarios). Permethrin exposure through dermal route became the second main contributor with 38% for the optimistic scenario, after cypermethrin ingestion (45%). For the most exposed individuals in the refine and the pessimistic censored scenario, oral route was still the main contributor route of the cumulative exposure, especially *via* the dietary ingestion of cypermethrin (mean of 45% and 53%, in both scenarios respectively). For the refine scenario and the most exposed adults, permethrin is the second main contributor (*e.g.* 27%) *via* the addition of dermal route exposure and dietary ingestion exposure.

The MOE estimated from the cumulative exposure of the four pyrethroids was high for the three censored scenarios with a median of 13,551 for the optimistic scenario, a median of 4,965 for the refine scenario, and a median of 1,349 for the pessimistic one (Table 4). For all scenarios and all individuals, the MOE was higher than 100.

Table 4. Descriptive statistics of **cumulative and aggregate exposures** to all pyrethroids and according to each exposure route (ng.kg_{bw}⁻¹.d⁻¹) in adults aged from 18 to 79 years old in France. Estimates given by the median and the confidence interval of 95% in square brackets according to the three censored scenarios.

	Censored scenario	Mean	SD	P5	P25	P50	P75	P90	P95	P99
Cumulative and aggregate exposure	Optimistic	111 [110-111]	411 [407-417]	30.8 [30.6-31.0]	53.3 [53.1-53.5]	73.8 [73.6-74.0]	100 [99.8-100]	135 [134-136]	165 [164-166]	451 [425-476]
	Refine	233 [238-240]	418 [415-422]	92.9 [92.5-93.5]	153 [152-153]	202 [201-202]	257 [256-258]	323 [322-325]	368 [366-370]	617 [591-642]
	Pessimistic	1.048 [1.046-1.050]	569 [565-572]	453 [449-458]	741 [740-743]	985 [982-989]	1.244 [1.240-1.246]	1.552 [1.546-1.563]	1.747 [1.740-1.753]	2.412 [2.400-2.437]
		73.7 [79.5-80.0]	44.5 [43.4-46.5]	2.18 [2.17-2.20]	52.3 [52.1-52.6]	72.2 [72.0-72.5]	97.5 [97.3-97.8]	128 [128-129]	150 [149-151]	216 [210-223]
Cumulative oral route	Optimistic	233 [207-209]	418 [81.8-83.4]	92.9 [24.1-24.2]	153 [151-152]	202 [199-200]	257 [250-252]	323 [312-315]	368 [351-353]	617 [452-456]
	Refine	1.048 [1.046-1.050]	569 [392-396]	453 [84.1-84.1]	741 [735-739]	985 [975-981]	1.244 [1.235]	1.552 [1.519-1.530]	1.747 [1.707-1.715]	2.412 [2.171-2.238]
	Pessimistic	0.051 [0.050-0.051]	0.054 [0.054-0.055]	0 [0-0]	0.007 [0.006-0.007]	0.034 [0.033-0.034]	0.076 [0.075-0.076]	0.131 [0.130-0.132]	0.162 [0.161-0.163]	0.225 [0.223-0.227]
		0.055 [0.054-0.055]	0.055 [0.055-0.056]	0 [0-0]	0.006 [0.006-0.007]	0.039 [0.039-0.039]	0.083 [0.082-0.083]	0.134 [0.134-0.135]	0.166 [0.164-0.167]	0.229 [0.227-0.231]
Cumulative inhalation route	Optimistic	0.407 [0.407-0.408]	0.073 [0.072-0.073]	0.205 [0.205-0.206]	0.357 [0.357-0.357]	0.401 [0.401-0.402]	0.451 [0.450-0.452]	0.502 [0.502-0.503]	0.537 [0.536-0.538]	0.609 [0.606-0.611]
	Refine	31.0 [30.3-31.7]	409 [405-415]	0 [0-0]	0.061 [0.060-0.061]	0.148 [0.146-0.149]	0.637 [0.632-0.644]	1.61 [1.59-1.63]	5.41 [5.14-5.63]	296 [268-324]
	Pessimistic	0.058 [0.053-0.060]	0.140 [0.139-0.141]	0.228 [0.227-0.230]	0.717 [0.711-0.722]	1.69 [1.68-1.72]	5.49 [5.09-5.70]	296 [269-324]		
		31.0 [30.3-31.6]	409 [406-413]	0.002 [0.002-0.002]	0.063 [0.062-0.063]	0.150 [0.148-0.152]	0.640 [0.634-0.646]	1.61 [1.59-1.63]	5.44 [5.02-5.62]	298 [268-323]
Cumulative dermal route	Optimistic	31.0 [30.3-31.6]	409 [406-413]	0.058 [0.053-0.060]	0.140 [0.139-0.141]	0.228 [0.227-0.230]	0.717 [0.711-0.722]	1.69 [1.68-1.72]	5.49 [5.09-5.70]	296 [269-324]
	Refine	31.0 [30.3-31.6]	409 [406-413]	0.058 [0.053-0.060]	0.140 [0.139-0.141]	0.228 [0.227-0.230]	0.717 [0.711-0.722]	1.69 [1.68-1.72]	5.49 [5.09-5.70]	296 [269-324]
	Pessimistic	31.0 [30.3-31.6]	409 [406-413]	0.058 [0.053-0.060]	0.140 [0.139-0.141]	0.228 [0.227-0.230]	0.717 [0.711-0.722]	1.69 [1.68-1.72]	5.49 [5.09-5.70]	296 [269-324]
		31.0 [30.3-31.6]	409 [406-413]	0.058 [0.053-0.060]	0.140 [0.139-0.141]	0.228 [0.227-0.230]	0.717 [0.711-0.722]	1.69 [1.68-1.72]	5.49 [5.09-5.70]	296 [269-324]

	Censored scenario	Mean	SD	P5	P25	P50	P75	P90	P95	P99
MOE of cumulative and aggregate exposure	Optimistic	16.249	14.188	6.050	9.997	13.551	18.771	26.287	32.476	65.771
		[16.154- 16.352]	[13.501- 15.068]	[6.009- 6.082]	[9.947- 10.027]	[13.518- 13.604]	[18.696- 18.858]	[26.111- 26.469]	[32.222- 32.725]	[63.456- 67.998]
	Refine	5.631	3.043	2.715	3.892	4.965	6.548	8.551	10.768	17.625
		[5.611- 5.651]	[3.000- 3.083]	[2.705- 2.729]	[3.881- 3.903]	[4.948- 4.977]	[6.523- 6.571]	[8.480- 8.612]	[10.700- 10.834]	[17.416- 17.864]
	Pessimistic	1.170	666	572	804	1.015	1.349	1.835	2.210	3.877
		[1.165- 1.174]	[654-678]	[570-576]	[802-807]	[1.011- 1.019]	[1.345- 1.352]	[1.817- 1.840]	[2.187- 2.226]	[3.833- 3.903]

Table 5. Mean contributions (%) in the total cumulative exposure of the different sources and routes of exposure for 50% and 5% of the most exposed adults considering aggregate exposures.

Exposure	Route/Source	Substance	Mean contribution of the 50% more exposed individuals*			Mean contribution of the 5% more exposed individuals*		
			Opt.	Refine	Pes.	Opt.	Refine	Pes.
Cumulative and aggregated exposure	Total oral route	All substances	96%	97%	99%	71%	79%	91%
	Non-dietary ingestion	All substances	4.0%	1.7%	0.4%	9.9%	4.7%	0.4%
	Dietary ingestion	All substances	92%	96%	98%	61%	75%	91%
	Total inhalation route	All substances	0.05%	0.02%	0.03%	0.02%	0.01%	0.02%
	Total dermal route	All substances	4.1%	2.8%	1.4%	29%	21%	9.1%
	Medicine dermal source	All substances	0.7%	0.6%	0.6%	6.5%	6.4%	5.3%
	Animal dermal source	All substances	2.6%	1.8%	0.7%	21%	14%	3.3%
	Air particles dermal source	All substances	0.01%	0.01%	0.01%	0.01%	0	0
	Dust dermal source	All substances	0.8%	0.4%	0.07%	2.0%	0.8%	0.06%
Aggregated exposure	Aggregate	Cyfluthrin	0.1%	6.6%	13%	0.05%	5.3%	13%
		Cypermethrin	72%	58%	57%	45%	45%	53%
		Deltamethrin	22%	29%	25%	18%	23%	22%
		Permethrin	6.2%	6.8%	4.9%	38%	27%	13%
	Oral route	Cyfluthrin	0.1%	6.6%	13%	0.03%	5.3%	13%
		Cypermethrin	72%	58%	57%	44%	45%	53%
		Deltamethrin	22%	29%	25%	18%	23%	22%
		Permethrin	2.4%	4.1%	3.6%	8.7%	6.7%	3.4%
	Inhalation route	Cyfluthrin	0.03%	0.01%	0.01%	0.01%	0.01%	0
		Cypermethrin	0	0	0.02%	0	0	0.01%
		Deltamethrin	0	0	0.01%	0	0	0
		Permethrin	0.02%	0.01%	0	0.01%	0	0
	Dermal route	Cyfluthrin	0.01%	0	0	0	0	0
		Cypermethrin	0.3%	0.1%	0.02%	0.1%	0.06%	0.01%
		Deltamethrin	0.04%	0.01%	0	0.02%	0.01%	0
		Permethrin	3.8%	2.7%	1.3%	29%	21%	9.1%

*The confidence intervals of 95% were tight across the 100 runs and thus not shown.

Discussion

This present study estimated pyrethroid exposure in the adult population in France *via* different routes (oral, inhalation and dermal) and sources (diet, home dust, indoor and outdoor air, treated pets, and medicine products). Our results confirm that exposure to pyrethroids mainly came from dietary exposure (Darney *et al.*, 2018; Dereumeaux *et al.*, 2018; Fortes *et al.*, 2013; Glorennec *et al.*, 2017; Lu *et al.*, 2009; Morgan, 2012; Saillenfait *et al.*, 2015; Ye *et al.*, 2015). Moreover, our work demonstrated that adding other sources of exposure increased whole exposure especially for high exposed individuals but still lead to high MOE regarding neurotoxic effect. In this present study, seven potential sources of pyrethroids were taking into account to assess aggregate exposure *via* the three main routes. To model aggregate exposure of pyrethroids, heterogeneous data from three observed dataset with sometimes low sample size and from parametric distributions from literature were combined by following method recommended by the paper of Vanacker *et al.* (2019 (In press)). Moreover, the PBPK model confirmed the relevance of the external aggregate exposure modelling, as internal simulated concentrations from external exposures were close to the biomonitoring results.

Estimation of urinary metabolite concentrations

Pyrethroids that enter in the body are rapidly metabolized and eliminated, mainly by urine, but also by feces and breathe. Despite their rapid degradation, urinary levels of pyrethroid metabolites may be a useful indicator of exposure as the amounts of metabolites excreted in urine are correlated with increasing exposure levels (ATSDR, 2003). If exposure levels are very high or if exposure occurs over a long time, then pyrethroids can build up in fatty tissue and remain in the body for a little longer (ATSDR, 2003).

The consideration of internal exposures using a global PBPK model (Quindroit *et al.*, 2019) allows the plausibility of external scenarios to estimate metabolite concentrations in urine and to compare them to the biomonitoring data of French population (ENNS) and other cohorts from literature (Table 6). The urinary concentrations of metabolites assessed with the refine scenario from the INCA2 population showed closest results in comparison to the optimistic and pessimistic scenario which tended to largely underestimate and overestimate the exposures especially for the most exposed individuals. In Darney *et al.* (2018), urinary concentrations of *cis* and *trans*-DCCA were also assessed from three scenarios (lower, intermediate and upper) simulations of external exposures to permethrin (Hermant *et al.*, 2017) but the results of modelled urinary concentrations from their intermediate scenarios were up to five times higher

than the results of the refine scenario in this paper. The refine scenario developed here is intended to be more realistic by taking into account true zero values than the other intermediate scenarios which replace generally all censored values by the half of the LOD or LOQ.

Except for F-PBA concentrations that have been overestimated, results with the refine scenario were similar to the biomonitoring data previously observed in France in 6 years old children (Glorennec *et al.*, 2017) and pregnant women (Dereumeaux *et al.*, 2018). From this work, the concentrations of F-PBA were $0.07 \mu\text{g.L}^{-1}$ for the P50 and $0.18 \mu\text{g.L}^{-1}$ for the P95. The P50 was greatly overestimated with the refine scenario in comparison to biomonitoring data where the majority of urinary concentrations were under the limit of quantification in France or in other countries (Becker *et al.*, 2006; Dereumeaux *et al.*, 2018; Glorennec *et al.*, 2017). For example, in French pregnant women, F-PBA was not detected in all urine sample (Dereumeaux *et al.*, 2018). Furthermore, F-PBA is specific to the isomers of cyfluthrin (Starr *et al.*, 2008). It appears that the only measurement of cyfluthrin in outdoor air was observed at a very high concentration (1.77 ng.m^{-3} , Lig'Air (2014)), leading to high concentration exposures of cyfluthrin by inhalation. However, F-PBA was not correlated to the inhalation route but mainly to the oral route, especially the dietary intake of cyfluthrin, and moderately to cypermethrin and permethrin. Oral route was the most important pathway in the adult French population to exposure of pyrethroids, and especially by the ingestion of food while the quantification of pyrethroid concentrations in raw agricultural commodities was lower than 1%. Although the metabolite of DBCA is specific to deltamethrin, its exposure was also correlated to the other pyrethroid metabolites which suggested that an individual with a high exposure of deltamethrin is also highly exposed to the other pyrethroids. The P95 of DBCA urinary concentration was of $1.26 \mu\text{g.L}^{-1}$ in this paper and was similar to measurements from past French studies (Dereumeaux *et al.*, 2018; Fréry *et al.*, 2013; Glorennec *et al.*, 2017). This DBCA concentrations was related to the fact that the dietary intake deltamethrin was one of the most important source of external exposure especially. However, for a reason that is still unexplained, all French data on DBCA urinary concentrations were mainly higher than those observed elsewhere (Saillenfait *et al.*, 2015).

Modelled metabolites in this work were closer to pregnant women (Dereumeaux *et al.*, 2018) and to 6 years old children (Glorennec *et al.*, 2017), than those measured by (Fréry *et al.*, 2013) reflecting adult French population. This is particularly the case of 3-PBA where the P95 in the ENNS study approached $4.4 \mu\text{g.L}^{-1}$, while we observed $1.51 \mu\text{g.L}^{-1}$ for the INCA2 population in this paper, near to the results of $1.89 \mu\text{g.L}^{-1}$ observed in pregnant women (Dereumeaux *et*

al., 2018). These high value of biomonitoring data in the ENNS population may be due that the urinary concentrations were measured in 2006-2007 well before the prohibition of permethrin in agricultural uses, whereas the concentrations of pyrethroids measured in food for this paper were analysed between 2010 and 2014.

Table 6. Comparison of urinary concentrations of pyrethroid metabolites from this study and previous French studies ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

Population Reference	Population age (years)	Sampling period	Simulation (scenario) or biomonitoring data	cis-DCCA		trans-DCCA		F-PBA		3-PBA		DBCA	
				P50	P95	P50	P95	P50	P95	P50	P95	P50	P95
INCA2 ¹ population (n=10,000) This work	18 to 74	2005-2007	optimistic	0.06	0.17	0.16	0.44	<0.01	0.002	0.19	0.54	0.12	0.5
			refine	0.23	0.49	0.59	1.24	0.07	0.18	0.74	1.51	0.56	1.26
			pessimistic	1.32	2.56	3.29	6.31	0.73	1.54	3.57	6.57	2.45	4.91
ENNS ² population (n=396) Fréry <i>et al.</i> (2013)	18 to 64	2006-2007	biomonitoring data	0.13	1.42	0.31	3.85	<0.01	0.82	0.65	4.36	0.36	2.33
Men ENNS ² population (n=74) Darney <i>et al.</i> (2018)	18 to 64	2006-2007	lower	0.01	0.06	0.03	0.08						
			intermediate	0.67	2.20	1.81	5.91						
			upper	1.34	4.37	3.61	11.7						
Women ENNS ² population (n=145) Darney <i>et al.</i> (2018)	18 to 64	2006-2007	lower	0.02	0.10	0.06	0.25						
			intermediate	1.07	2.90	2.74	7.73						
			upper	2.15	5.91	5.50	14.9						
Children PELAGIE ³ cohort (n=245) Glorennec <i>et al.</i> (2017)	6	2009-2012	biomonitoring data	0.09	0.19	0.22	1.75	<0.02	0.02	0.02	0.20	0.20	1.12
Pregnant women ELFE ⁴ cohort (n=1,077) Dereumeaux <i>et al.</i> (2018)	≥ 18		biomonitoring data	0.16	0.91 [0.77 - 0.98]	0.26	2.29 [1.61 - 2.73]	<0.02	0.02 [<0.015 - 0.30]	0.36	1.89 [1.59 - 2.19]	0.23	1.38 [1.30 - 1.49]

¹INCA2: second national study of Individual and National Study on Food Consumption

²ENNS: French Nutrition and Health Survey

³PELAGIE: mother-child survey focused on endocrine disruptors “Etudes Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l’Infertilité et l’Enfance”

⁴ELFE: French Longitudinal Study since Childhood

Relationships between urinary metabolite concentrations and external exposure

Dietary intake was identified as the main contributor to pyrethroid metabolites which is also the case in other studies (Darney *et al.*, 2018; Dereumeaux *et al.*, 2018; Fortes *et al.*, 2013; Glorennec *et al.*, 2017; Lu *et al.*, 2009; Morgan, 2012; Saillenfait *et al.*, 2015; Ye *et al.*, 2015). They are more often used on crops than other pyrethroids in the United-States (ATSDR, 2003). In Europe, permethrin is no longer approved since 2000 as an active substance for agricultural use by European regulations (Regulation (EC) No 1107, 2009; Regulation (EU) No 528, 2012). Our results show that permethrin had lower concentrations in food compared to cypermethrin and deltamethrin. However, exposure by food to permethrin was highly correlated to modelled metabolite concentrations due its slow elimination in the body. All the four pyrethroids were mainly found in milk cattle. Depending of the substance, pyrethroids were also observed in some meats, cereals, fruits and one vegetable, the cauliflower. Thus, fruits and vegetables were not the only sources of exposure to pyrethroids French adults but also cereals and foods with animal origin. These results were similar to those observed in children French populations in Glorennec *et al.*, 2017, where correlations with pasta, rice, and semolina were observed for *cis*-DCCA and F-PBA, and with cereals for *cis*-DBCA while children were mainly exposed by fruits for the 3-PBA. For pregnant French women, the metabolite concentrations were also associated with some animal foods, especially the weekly intake of fish (Dereumeaux *et al.*, 2018) which may be related to the bioaccumulation of pyrethroids in animal tissues (Muir *et al.*, 1994). In other countries, urinary metabolites were positively correlated with the intake of vegetables in Italian adult population (Fortes *et al.*, 2013), in Canadian population (Ye *et al.*, 2015), in Germany (Becker *et al.*, 2006). In the United States, Lu *et al.* (2009) studied the seasonality of pyrethroid insecticides exposure in children and suspected that the exposure mainly came from the consumption of imported fresh produces which contain higher pyrethroid insecticides residues than the domestically grown produces. Hyland *et al.* (2019) also observed that organic diet decreases significantly the urinary metabolite concentrations of pyrethroids in adults but not in children, supposing exposure from other sources. Finally, the differences among urinary metabolites between countries or population such as children, adult, pregnant women, may be due to variety in agriculture practices related to different types of crops and climate in the vicinity and different dietary habits.

Another point is that important associations between household use of insecticides and urinary concentrations of pyrethroid metabolites have been observed in previous French studies

(Dereumeaux *et al.*, 2018; Glorennec *et al.*, 2017) and in the United States (Lu *et al.*, 2006; Morgan, 2012). Darney *et al.* (2018) showed that home dust was the second main source of exposure influencing metabolite concentrations, with a total contribution to urinary excretion of 12.8%, 11.3% *via* the oral route and 1.48% *via* dermal contact. Similarly to these results, Glorennec *et al.* (2017) found in children dust exposure moderately contributed to all exposure sources and urinary metabolite concentrations. In the ENNS study, Fréry *et al.* (2013) made the hypothesis that the high concentrations of pyrethroids metabolites in urine was related to the veterinary treatment of pets. 38% of individuals in the ENNS population used pesticides as flea treatments on their animals. This hypothesis was also related in the study of Hermant *et al.* (2017), but they did not further investigate this exposure factor in the absence of data. In this paper, a potential exposure transfer between pets and human was calculated to assess the importance of veterinary treatment in the human exposure. Permethrin was the only substance considered in veterinary products for this study. The results confirmed that the dermal exposure of permethrin *via* pet care was an important source of exposure for the most exposed individuals approaching 14% of the total exposure (refine scenario). Furthermore, permethrin was also used for treatment against scabies. More than 3% of French people are infected by scabies (Bitar *et al.*, 2012) and an important quantity of permethrin (0.867 g/m²) contained in the cream was directly applied to the skin. The only use of medicine product with permethrin for 3% of individuals lead to the most exposed individuals with 6% of the total external cumulative exposure of pyrethroids. In the United States, humans who use shampoos or sprays that contain pyrethroids for their pets are likely to be more exposed than persons without pets (ATSDR, 2003). While the dermal route *via* permethrin with a contribution of 21% in the external cumulative exposure was the second route, the metabolite concentrations were not associated to this route. Indeed, Darney *et al.* (2018) suggested that pyrethroids have difficulties to penetrate dermal barrier, and then very few of them end up in the urine.

In contrast to the other routes, inhalation in this paper was completely insignificant for external exposure and metabolite concentrations. This result was similar to those observed in Darney *et al.* (2018) for permethrin. However, inhalation route may influence pyrethroids in the case of smoking. Dereumeaux *et al.* (2018) found in French pregnant women that smoking habits during pregnancy were associated with higher pyrethroid urinary metabolite concentrations which could be explained by a direct exposure to pyrethroids used for treating tobacco leaves (Cai *et al.*, 2002; Reay-Jones, 2017). Moreover, regarding exposure through inhalation, some limitations of our work must be underlined. First, the indoor concentrations were only those

measured in dwellings. Indoor concentrations of pyrethroids in other buildings where adults also spend some time, such as offices, are not available. Nevertheless, according to activities in office buildings, indoor air concentrations higher than in dwellings are not expected. Second, few monitoring surveys of pyrethroids in outdoor air were carried out in France. The outdoor measurements used for the present evaluation are scarce and the exposure of the French population to pyrethroids in outdoor air needs to be better assessed.

Cumulative and aggregate exposure and risk of pyrethroids

The calculation of the MOE resulted in high values avoiding a potential risk for neurotoxic effect in the French adult population. Similarly, the risks from the pyrethroid exposure in other studies were not considered of health concern (Jardim *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2016; Quijano *et al.*, 2016). However, these cumulative risks were mainly based on pyrethroid residues sampled only in fruits and vegetable intakes. As shown in our results, other food items and sources like dermal exposure for high exposed individuals can contribute to the whole exposure and must be taken into account in further studies.

Conclusion

External exposures to four pyrethroids (cyfluthrin, cypermethrin, deltamethrin and permethrin) in the adult population in France were estimated *via* different routes (oral, inhalation and dermal) and sources (diet, home dust, indoor and outdoor air, treated pets, and medicine products). The application of a PBPK model to external exposures allowed to validate their calculation as modelled urinary concentrations of pyrethroid metabolites were similar to measured concentrations from previous studies, except for F-PBA. The main sources of pyrethroid exposure was the ingestion of food containing cypermethrin and deltamethrin, followed by the dermal source exposure *via* pets or medicine treatments for the most exposed individuals. The main contributors to dietary exposure were products from animal origins, cereals, fruits and cauliflower.

Despite high levels of external exposure and urinary concentrations, the cumulative exposure was not considered of health concern with potential neurological disorders for the French adult population. It would be useful to perform this work for French children. Furthermore, as the kinetic of the pyrethroids are complex, it would be relevant to take into account for other pyrethroids which may influence the same metabolites identified in the PBPK model and thus contribute to significant neurological disorder.

References

- AirPACA. Observatoire des résidus de pesticides en PACA. 2015 : Résultats. Air PACA Qualité de l'Air, 2015, pp. 53p.
- AIRPARIF. Les pesticides dans l'air francilien - Partie II- Campagne 2013/2014. In: île-de-France A-LOdlae, editor, Paris, 2016, pp. 85p.
- 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. In: ANSES, editor, Maisons-Alfort, France, 2010, pp. 365p.
- ANSES. Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la "hiérarchisation des dangers sanitaires toxiques ou présents en France métropolitaine chez les chiens et les chats". In: l'ANSES Ad, editor. Saisine n°2013-SA-0094B. ANSES, Maisons-Alfort, 2015, pp. 68p.
- ASPA. Campagne de mesures. Evaluation des produits phytosanitaires dans l'air en Alsace. Année 2015. In: Alsace AplSelédIPAe, editor, Schiltigheim, 2016, pp. 50p.
- ATSDR AftSaDR. Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Georgia, 2003, pp. 287p.
- Becker K, Seiwert M, Angerer J, Kolossa-Gehring M, Hoppe H-W, Ball M, et al. GerES IV Pilot Study: Assessment of the exposure of German children to organophosphorus and pyrethroid pesticides. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2006; 209: 221-233.
- Beko G, Weschler CJ, Langer S, Callesen M, Toftum J, Clausen G. Children's phthalate intakes and resultant cumulative exposures estimated from urine compared with estimates from dust ingestion, inhalation and dermal absorption in their homes and daycare centers. *PLoS One* 2013; 8: 1-18.
- Bitar D, Thiolet J-M, Haeghebaert S, Castor C, Poujol I, Coignard B, et al. Increasing incidence of scabies in France, 1999-2010, and public health implications. *Annales de Dermatologies et de Vénérologie* 2012; 139: 428-434.
- Blanchard O, Glorennec P, Mercier F, Bonvallot N, Chevrier C, Ramalho O, et al. Semivolatile organic compounds in indoor air and settled dust in 30 French dwellings. *Environmental Science and Technology* 2014; 48: 3959-69.

Bois, F.Y., 2009. GNU MCSim: Bayesian statistical inference for SBML-coded systems biology models. *Bioinformatics* 25, 1453-1454.

Boon PE, van Donkersgoed G, Christodoulou D, Crépet A, D'Addezio L, Desvignes V, et al. Cumulative dietary exposure to a selected group of pesticides of the triazole group in different European countries according to the EFSA guidance on probabilistic modelling. *Food and Chemical Toxicology* 2015; 79: 13-31.

Breizh A. Mesure de pesticides à Mordelles. Résultats de la campagne 2007. Bilan 2005/2006/2007. In: Breizh A, Régional C, Métropol R, editors, Rennes, 2008, pp. 33p.

Breizh A. Campagne de mesure de pesticides à Mordelles du 7 avril au 20 juillet 2010. In: Breizh A, Régional C, Métropole R, editors, Rennes, 2012, pp. 29p.

Breizh A. Mesure des pesticides dans l'air à Mordelles - campagne 2014. In: Breizh A, Régional C, Métropol R, editors, Rennes, 2015, pp. 39p.

Cai J, Liu B, Zhu X, Su Q. Determination of pyrethroid residues in tobacco and cigarette smoke by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A* 2002; 964: 205-211.

Cao Z, Shafer TJ, Crofton KM, Gennings C, Murray TF. Additivity of pyrethroid actions on sodium influx in cerebrocortical neurons in primary culture. *Environmental Health Perspectives* 2011; 119: 1239-46.

CDC CfDCaP. Fourth national report on human exposure to environmental chemicals. In: Services DoHaH, Prevention CfDCa, editors, Atlanta, 2009, pp. 519p.

Crépet A, Vanacker M, Sprong C, de Boer W, Blaznik U, Kennedy M, et al. Selecting mixtures on the basis of dietary exposure and hazard data: application to pesticide exposure in the European population in relation to steatosis. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2018.

Darney K, Bodin L, Bouchard M, Cote J, Volatier JL, Desvignes V. Aggregate exposure of the adult French population to pyrethroids. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2018; 351: 21-31.

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

Dubois D, Dubois EF. Nomogramme pour la détermination de la surface cutanée à partir de la taille et du poids. *Archives Internationales de Médecine* 1916; 17: 863-71.

Dubuisson C, Lioret S, Touvier M, Ariane D, Calamassi-Tran G, Volatier J-L, et al. Trends in food and nutritional intakes of French adults from 1999 to 2007: Results from the INCA surveys. *British Journal of Nutrition* 2010; 103: 1035-48.

EFSA. Guidance on the Use of Probabilistic Methodology for modelling Dietary Exposure to Pesticide Residues. *EFSA Journal* 2012; 10.

EFSA. Scientific opinion on dietary reference values for energy. EFSA panel on dietetic products, nutrition and allergies. *EFSA Journal* 2013; 11: 3005.

Egerer E, Rossbach B, Muttray A, Schneider M, Letzel S. Biomonitoring of pyrethroid metabolites in environmental medicine. *Umweltmed. Forsch. Prax.* 2004; 9.

Fortes C, Mastroeni S, Pilla MA, Antonelli G, Lunghini L, Aprea C. The relation between dietary habits and urinary levels of 3-phenoxybenzoic acid, a pyrethroid metabolite. *Food and Chemical Toxicology* 2013; 52: 91-96.

Fréry N, Guldner L, DSaoudi A, R. G, A. Z, Bidondo M. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Tome 2: Polychlorobiphényles (PCB-NDL) et Pesticides. *Insitut de Veille Sanitaire (InVS), Saint-Maurice*, 2013, pp. 178p.

Fréry N, Saoudi A, Garnier R, Zeghnoun A, Falq G. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. . *Insitut de Veille Sanitaire (InVS), Saint-Maurice*, 2011, pp. 151p.

Glorennec P, Serrano T, Fravallo M, Warembourg C, Monfort C, Cordier S, et al. Determinants of children's exposure to pyrethroid insecticides in western France. *Environment International* 2017; 104: 76-82.

Health Canada. Report on human biomonitoring of environmental chemicals in Canada. Results of the Canadian health measures survey cycle 1 (2007-2009). 283p. *Health Canada, Ottawa, Ontario*, 2010.

Hercberg S, Deheeger M, Preziosi P. Portions alimentaires: Manuel photos pour l'estimation des quantités. (Food portions: Picture booklet for the estimation of quantities). *PolyTechnica, Paris*, 1994.

Hermant M, Blanchard O, Perouel G, Boulanger G, Merlo M, Desvignes V. Environmental exposure of the adult French population to permethrin. *Risk Analysis* 2017.

Hyland C, Bradman A, Gerona R, Patton S, Zakharevich I, Gunier RB, et al. Organic diet intervention significantly reduces urinary pesticide levels in U.S. children and adults. *Environmental Research* 2019; 171: 568-575.

Jardim ANO, Brito AP, van Donkersgoed G, Boon PE, Caldas ED. Dietary cumulative acute risk assessment of organophosphorus, carbamates and pyrethroids insecticides for the Brazilian population. *Food and Chemical Toxicology* 2018; 112: 108-117.

JMPR. Pesticide residues in Food. Report of the 1999 Joint FAO/WHO meeting of experts. In: FAO/WHO, editor, Rome, Italy, 1999, pp. 293.

Koureas M, Tsakalof A, Tsatsakis A, Hadjichristodoulou C. Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. *Toxicology Letters* 2012; 210: 155-68.

Li Z, Nie J, Lu Z, Xie H, Kang L, Chen Q, et al. Cumulative risk assessment of the exposure to pyrethroids through fruits consumption in China - Based on a 3-year investigation. *Food and Chemical Toxicology* 2016; 96: 234-43.

Lig'Air. Contamination de l'air par les produits phytosanitaires en région Centre - Année 2013 - Rapport final. Lig'Air, Surveillance de la qualité de l'air en région Centre, Saint-Cyr-En-Val, 2014, pp. 36p.

Lig'Air. Contamination de l'air par les produits phytosanitaires en région Centre - Val de Loire. Année 2014. In: Centre LA-Sdlqdlær, editor, Saint-Cyr-en-Val, 2015, pp. 46p.

Lig'Air. Contamination de l'air par les produits phytosanitaires en région Centre - Val de Loire. Année 2015. In: Loire LA-SdlqdlærC-Vd, editor, Saint-Cyr-en-Val, 2016, pp. 43p.

Lig'Air. Contamination de l'air par les produits phytosanitaires. région Centre - Val de Loire. Année 2016. In: Loire LASdlqdlærC-Vd, editor, Saint-Cyr-En-Val, 2017, pp. 36p.

LioRET S, Dubuisson C, Dufour A, Touvier M, Calamassi-Tran G, Maire B, et al. Trends in food intake in French children from 1999 to 2007: results from the INCA (étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires) dietary surveys. *British Journal of Nutrition* 2010; 103: 585-601.

Loire APdl. Mesure de produits phytosanitaires en zones viticoles et urbaines de Loire-Atlantique. In: Loire APdl, editor, Nantes, 2005, pp. 37p.

Loire APdl. Mesures de produits phytosanitaires dans l'air en zone arboricole et en milieu urbain. Campagne de mesure printemps-été 2007. In: Loire APdl, editor, Nantes, 2008, pp. 33p.

Lu C, Barr DB, Pearson M, Bartell S, Bravo R. A Longitudinal Approach to Assessing Urban and Suburban Children's Exposure to Pyrethroid Pesticides. *Environmental Health Perspectives* 2006; 114: 1419-1423.

Lu C, Barr DB, Pearson MA, Walker LA, Bravo R. The attribution of urban and suburban children's exposure to synthetic pyrethroid insecticides: a longitudinal assessment. *Journal Of Exposure Science And Environmental Epidemiology* 2009; 19: 69-78.

Mandin C, Mercier F, Lucas JP, Ramalho O, Blanchard O, Bonvallot N, et al. ECOS-POUSS: A nationwide survey of semi-volatile organic compounds in home settled dust. *Air Conference* 2014, July 7-12. VI. International Society of Indoor Air Quality and Climate, Hong-Kong, 2014, pp. 143-148.

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

Mercier F, Gilles E, Saramito G, Glorennec P, Le Bot B. A multi-residue method for the simultaneous analysis in indoor dust of several classes of semi-volatile organic compounds by pressurized liquid extraction and gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2014; 1336: 101-11.

Mercier F, Glorennec P, Blanchard O, Le Bot B. Analysis of semi-volatile organic compounds in indoor suspended particulate matter by thermal desorption coupled with gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2012; 1254: 107-14.

Morgan MK. Children's exposures to pyrethroid insecticides at home: a review of data collected in published exposure measurement studies conducted in the United States. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2012; 9: 2964-85.

Muir DCG, Hobden BR, Servos MR. Bioconcentration of pyrethroid insecticides and DDT by rainbow trout: uptake, depuration, and effect of dissolved organic carbon. *Aquatic Toxicology* 1994; 29: 223-240.

Nouvelle-Aquitaine A. Mesure des pesticides dans l'air. Campagne 2016. In: l'air AN-ALord, editor, Bordeaux, 2017, pp. 80p.

ORAMIP. Campagne d'évaluation des concentrations en phytosanitaires dans l'air ambiant - 2012 - Commune de Douelle (Lot). In: Midi-Pyrénées O-ORdlAe, editor, Colomiers, 2013, pp. 31p.

ORAMIP. Campagne d'évaluation des concentrations en phytosanitaires dans l'air ambiant - 2013 - Commune de Douelle (Lot). In: Midi-Pyrénées O-ORdlAe, editor, Colomiers, 2014, pp. 25p.

Özkaynak H, Xue J, Zartarian VG, Glen G, Smith L. Modeled estimates of soil and dust ingestion rates for children. Risk Analysis 2011; 31: 592-608.

Pas-de-Calais AN-. Rapport d'études : Campagne de mesure de la qualité de l'air. Mesure des pesticides en Nord - Pas-de-Calais. Année 2013. In: l'atmosphère AN-P-d-CPacéAplseléd, editor, Lille, 2015a, pp. 45p.

Pas-de-Calais AN-. Rapport d'études : Campagne de mesure de la qualité de l'air. Mesure des pesticides en Nord - Pas-de-Calais. Année 2014. In: l'atmosphère AN-P-d-CPacéAplseléd, editor, Lille, 2015b, pp. 48p.

Pas-de-Calais AN-. Rapport d'études : Campagne de mesure de la qualité de l'air. Mesure des pesticides en Nord - Pas-de-Calais. Année 2015. In: l'atmosphère AN-P-d-CPacéAplseléd, editor, Lille, 2016, pp. 52p.

Quijano L, Yus V, Font G, Pardo O. Chronic cumulative risk assessment of the exposure to organophosphorus, carbamate and pyrethroid and pyrethrin pesticides through fruit and vegetables consumption in the region of Valencia (Spain). Food and Chemical Toxicology 2016; 89: 39-46.

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

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing., R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria., 2017.

Reay-Jones FPF. Tobacco Insect Control. South Carolina Pest Management Handbook for Field Crops 2017: 283-293.

Regulation (EC) No 1107. of The European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC, pp, 2009.

Regulation (EU) No 528. of the European Parliament and of the Council of 22 may 2012 concerning the making available on the market and use od biocidal products. , 2012.

Saillenfait AM, Ndiaye D, Sabate JP. Pyrethroids: exposure and health effects--an update. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2015; 218: 281-92.

Soderlund DM, Clark JM, Sheets LP, Mullin LS, Piccirillo VJ, Sargent D, et al. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology* 2002; 171: 3-59.

Starr J, Graham S, Stout D, 2nd, Andrews K, Nishioka M. Pyrethroid pesticides and their metabolites in vacuum cleaner dust collected from homes and day-care centers. *Environmental Research* 2008; 108: 271-9.

U.S. EPA. Exposure Factors Handbook 2011 Edition (final report), U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2011a, pp. 1436p.

U.S. EPA. Pyrethrins/Pyrethroid cumulative risk assessment. U.S. Environemental Protection Agency

Office of Pesticide Programs, Washington, D.C. 20460, 2011b, pp. 88.

Van Balen EC, Wolansky MJ, Kosatsky T. Increasing use of pyrethroids in Canadian households: should we be concerned? *Canadian Journal of Public Health* 2012; 103: 404-407.

van der Voet H, de Boer WJ, Kruisselbrink JW, Goedhart PW, van der Heijden GWAM, Kennedy MC, et al. The MCRA model for probabilistic single-compound and cumulative risk assessment of pesticides. *Food and Chemical Toxicology* 2015; 79: 5-12.

Vanacker M, Tressou J, Perouel G, Glorennec P, Crepet A. Combining data from heterogeneous surveys for aggregate exposure: a case study of children exposure to lead. *Environmental Research* 2019 (In press).

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

Xue J, Zartarian V, Tornero-Velez R, Tulse NS. EPA's SHEDS-multimedia model: children's cumulative pyrethroid exposure estimates and evaluation against NHANES biomarker data. *Environment International* 2014; 73: 304-11.

Ye M, Beach J, Martin JW, Senthilselvan A. Associations between dietary factors and urinary concentrations of organophosphate and pyrethroid metabolites in a Canadian general population. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2015; 218: 616-626.

Développement d'une approche de dosimétrie inverse basée sur la modélisation PBPK pour estimer l'exposition des populations à un mélange de pyréthrinoïdes

Sera soumis à *Environmental Research* avant fin 2019.

Les données de biosurveillance humaine (*Human BioMonitoring* - HBM) permettent de démontrer l'exposition des populations aux composés chimiques présents dans l'environnement mais ne constituent pas, en tant que telles, des mesures directes de l'exposition. Pour intégrer les données HBM dans l'évaluation de l'exposition, la modélisation pharmacocinétique à base physiologique (*Physiologically Based Pharmacokinetic* – PBPK) peut être utilisée via une approche de dosimétrie inverse pour permettre d'associer des expositions à des niveaux spécifiques de composés dans les urines. Les insecticides de la famille des pyréthrinoïdes sont utilisés dans des domaines tels que l'agriculture, l'entretien des logements et la médecine humaine ou vétérinaire. Les pyréthrinoïdes étant rapidement métabolisés, l'exposition humaine est généralement évaluée en mesurant les concentrations urinaires de leurs métabolites.

L'objectif de ce travail était de développer une méthodologie pour estimer l'exposition orale de la cohorte française ENNS à quatre composés pyréthrinoïdes (*cis*- et *trans*-perméthrine, *cis*- et *trans*-cyperméthrine, *cis*- et *trans*-cyfluthrine et deltaméthrine) à partir de concentrations de métabolites urinaires (*cis*- et *trans*-DCCA, F-PBA, 3-PBA et DBCA). Comme la cyperméthrine et la perméthrine partagent les mêmes métabolites (*cis*- et *trans*-DCCA, 3-PBA) et n'ont pas de métabolite spécifique, il n'était pas possible de déterminer quelle part des concentrations urinaires serait attribuable à l'un ou l'autre des composés parents.

Dans un premier temps, un ratio pondéré sur l'exposition réaliste française basé sur l'alimentation a été calculé entre la perméthrine et la cyperméthrine. Un modèle PBPK global pour les pyréthrinoïdes a ensuite été utilisé dans un cadre bayésien pour calculer les distributions des doses d'exposition orale de cyperméthrine, cyfluthrine et deltaméthrine sur la base des concentrations urinaires de métabolites de chaque individu. Puis, le ratio d'exposition calculé entre la perméthrine et la cyperméthrine a été utilisé pour estimer les doses d'exposition orale de perméthrine sur la base des doses d'exposition orale prédites pour la cyperméthrine.

Nos résultats ont montré que la population française semble plus exposée à la deltaméthrine, à la cyperméthrine, à la cyfluthrine et enfin à la perméthrine. Les doses d'exposition orale estimées dans notre travail se situent dans le même ordre de grandeur que les doses d'exposition orale estimées pour la population française dans d'autres études. Un indice de risque (*Hazard Index* – HI) a été calculé pour chaque individu afin d'évaluer le risque cumulé lié au mélange de pyréthrinoïdes. Aucun risque associé à l'exposition cumulée aux quatre pyréthrinoïdes n'a été observé pour la population ENNS française. Cet outil peut être utilisé pour estimer l'exposition externe au mélange de pyréthrinoïdes et permet de déterminer la contribution de chaque composé parent aux concentrations de métabolites urinaires.

A reverse dosimetry approach using physiologically based pharmacokinetic modeling to estimate the exposure of populations to pyrethroids in mixtures

Paul Quindroit and Céline Brochot

Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS), Unité Modèles pour l'Ecotoxicologie et la Toxicologie (METO), Parc ALATA BP2, 60550 Verneuil en Halatte, France

Abstract

Human biomonitoring (HBM) data provide evidence to exposure of environmental chemicals but are not, by themselves, direct measures. To integrate HBM data in exposure assessment, physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling can be used in a reverse dosimetry approach to associate a distribution of exposures with specific urine levels of compounds. Pyrethroid insecticides are used in household applications, agriculture or medicine. Because pyrethroids are rapidly metabolized, human exposure is usually assessed by measuring the urinary concentrations of their metabolites. The aim of this work was to develop a methodology to estimate the oral exposure of the French ENNS cohort to four pyrethroid compounds (deltamethrin and *cis* and *trans* isomers of permethrin, cypermethrin, and cyfluthrin) from urinary metabolites concentrations (*cis*- and *trans*-DCCA, F-PBA, 3-PBA and DBCA). Since cypermethrin and permethrin share the same metabolites (*cis*- and *trans*-DCCA, 3-PBA) and don't have specific metabolite, it was not possible to determine which portion of urinary concentrations is attributable to one or the other parent compound. First, a realistic weighted exposure ratio between permethrin and cypermethrin based on exposure through diet was calculated. A global PBPK model for pyrethroids was then used in a Bayesian framework to back-calculate a daily intake distribution for cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin based on each individual's metabolites urinary concentrations. The calculated ratio between permethrin and cypermethrin was used to estimate the daily intakes of permethrin based on cypermethrin predicted daily intakes. Our results showed that the French population seems more exposed to deltamethrin, cypermethrin, cyfluthrin and finally permethrin. Estimated daily intakes are in the same range as estimated daily intakes for pyrethroids for the French population. Hazard Index (HI) method was used to assess risk of pyrethroids mixture. No risk associated to the cumulative exposure to the four pyrethroids was observed for the French ENNS population. This tool can be used to estimate external exposure to pyrethroids mixture and determine the contribution of each parent compound to urinary metabolites concentrations.

Keywords: PBPK model, pyrethroids, reverse dosimetry, exposure assessment.

Introduction

Human biomonitoring (HBM) refers to the measurement of chemicals or their metabolites in human tissues or specimens, such as blood or urine. HBM data reflect the body burden or a biological effect resulting from different sources and *via* different routes (CDC, 2011). This internal measurement has become an important tool in evaluating exposure to chemicals and can improve human health risk assessment for the general population (Angerer *et al.*, 2007).

Among insecticides, pyrethroids are increasingly used since the 1990s (Corbel and N'Guessan, 2013; Feo *et al.*, 2010; Williams *et al.*, 2008). Pyrethroids have a broad spectrum and can be used in the treatment of crops, public buildings, transport vehicles, housing and gardens, wood protection and as a human pest control (Saillenfait *et al.*, 2015). In HBM studies, exposure to pyrethroids is monitored *via* five metabolites excreted in urine: 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA), *cis*- and *trans*-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylic acid (*cis*-DCCA and *trans*-DCCA), 4-fluoro-3-phenoxybenzoic acid (F-PBA), 3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylic acid (DBCA). Pyrethroids' metabolites can be specific to a pyrethroid (DBCA for deltamethrin) or common to several pyrethroids, *e.g.* *cis*-DCCA and *trans*-DCCA are metabolites of *cis*- and *trans*-permethrin, *cis*- and *trans*-cyfluthrin and *cis*- and *trans*-cypermethrin respectively (Figure 1) (Starr *et al.*, 2008; Ueyama *et al.*, 2010).

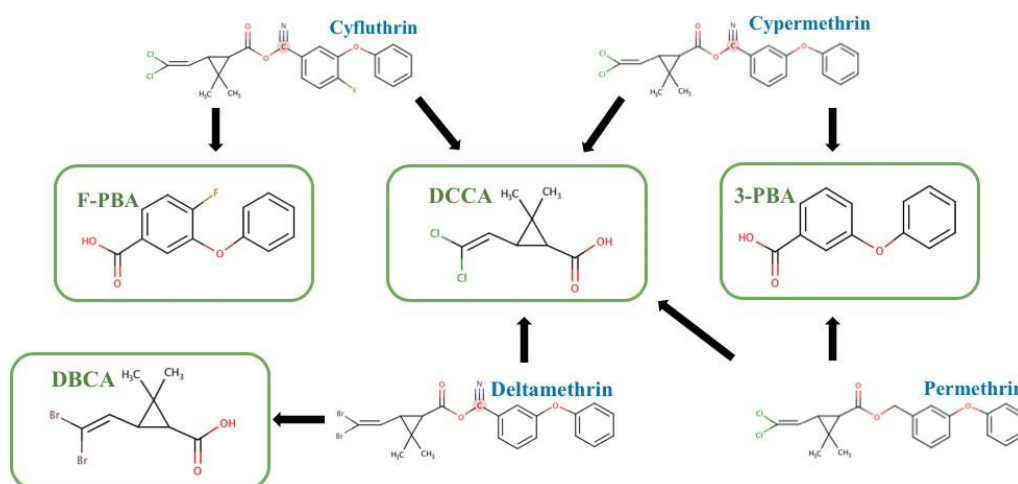


Figure 1: Pyrethroids and their urinary metabolites measured in biomonitoring studies, adapted from Ueyama *et al.* (2010) and Starr *et al.* (2008)

The capacity to interpret HBM data in a health risk context is gradually improving with the development of biomonitoring screening values, such as biomonitoring equivalents (BEs) (Hays and Aylward, 2009) or HBM values (Angerer *et al.*, 2011). BEs are defined as the concentration of a chemical (or metabolite) in a biological medium (blood, urine, human milk,

etc.) consistent with existing exposure guidance values such as reference doses or concentrations (RfD or RfC), acceptable daily intake (ADI), or tolerable daily intakes (TDI). They are a basic, screening level approach for putting biomonitoring data into a public health risk context (Hays *et al.*, 2007). Several BEs were derived for pyrethroids according to different exposure guidance values, for three of the 5 metabolites measured in HBM studies: F-PBA and DBCA that are respectively specific to cyfluthrin and deltamethrin, and 3-PBA a metabolite shared by numerous pyrethroids. The BE values developed by Aylward *et al.* (2011) are the concentrations of DBCA in urine consistent with the US EPA RfD (US EPA, 2010), the ADI derived by the European Commission (EC, 2002) and the ADI by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR, 2000). The BEs derived for F-PBA by Hays *et al.* (2009) are based on the US EPA RfD (US EPA, 2002), the TDI derived by Health Canada (1992) and the ADI by the JMPR (JMPR, 2006). Since the 3-PBA metabolite is not specific to any parent compound, a different approach is required. Recently, Aylward *et al.* (2018) developed an original approach in 2 tiers for the common metabolite 3-PBA: the first tier is based on the steady-state urinary concentrations of 3-PBA associated with RfD/ADI for each of the nine pyrethroids compounds and assumes that all of the measured 3-PBA arises from the compound with the lowest (most conservative) BE value. The second tier is based on weighting by relative exposure estimates for the different pyrethroid compounds. The first-tier value can be used as a conservative screening value, and the authors recommend applying the second tier when the HBM data exceed the tier 1 value.

In France, the most up-to-date biomonitoring study for the general French population (National Health Nutrition Study (ENNS) in 2006-2007) showed high levels of pyrethroids compared to other European or American populations (Fréry *et al.*, 2011). More recently, the Elfe HBM study also showed the same trends in pregnant women (Dereumeaux *et al.*, 2018). For the metabolites F-PBA and DBCA, the population distributions of the measured urinary concentrations are far below the existing BEs (Figure 2). Regarding 3-PBA, about 15% of the participants have urinary concentrations of 3-PBA which exceed the tier 1 value proposed by Aylward *et al.* (2018) (Figure 2). The second tier of their approach is not directly applicable to the French population as it involves exposure estimates of the pyrethroids for the American population that are not relevant for the French population as the uses of pyrethroids and the national regulations differ.

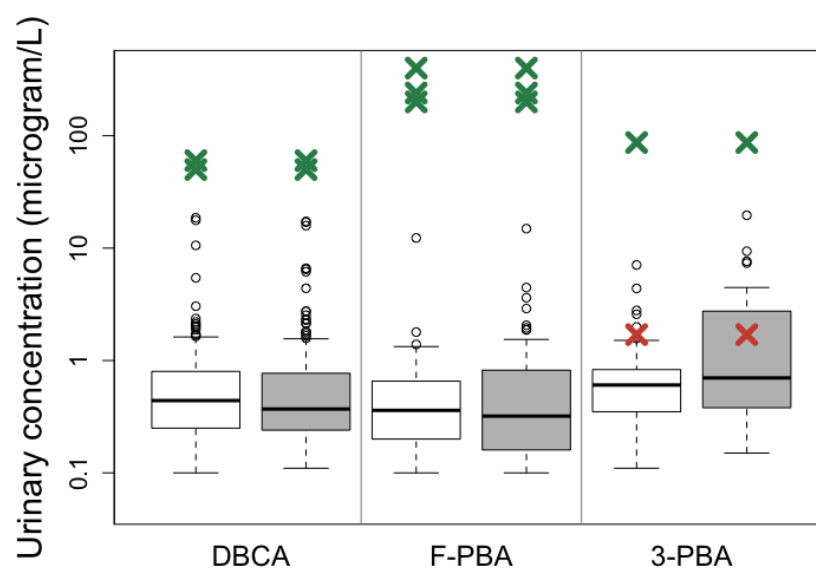


Figure 2: urinary concentrations in men (white boxplot) and women (grey boxplot) of DBCA, F-PBA and 3-PBA of the ENNS study together with BEs (Aylward *et al.*, 2018, 2011; Hays *et al.*, 2009). Green crosses represent the BEs values above maximum measured concentrations. The red crosses represent the first tier BE developed by Aylward *et al* (2018).

An alternative approach to the use of BE values would be to estimate from HBM data the exposure, in the form of a daily intake for example, *via* toxicokinetic models. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models allow to simulate the fate of compounds in the body by accounting for their absorption, distribution, metabolism and excretion, and for the anatomy and physiology of the individual (Bois and Brochot, 2016). They aim to link an external exposure to an internal dosimetry. Quindroit *et al.* (2019) developed a global toxicokinetic model that links the external exposure to four pyrethroids and their isomers (deltamethrin and *cis* and *trans* isomers of permethrin, cypermethrin, and cyfluthrin) to the urinary concentrations of metabolites (*cis*- and *trans*- DCCA, 3-PBA, F-PBA and DBCA). This global model includes physiologically based pharmacokinetic models (PBPK) for each parent compound and one-compartment models for the metabolites. The model is able to calculate the cumulative amount of the metabolites from several parent compounds. The use of PBPK modeling has been applied in estimating human exposures or health risks from biomonitoring data (Aylward *et al.*, 2005; Brochot *et al.*, 2019; Georgopoulos *et al.*, 1994; Moreau *et al.*, 2017; Sarigiannis *et al.*, 2019; Sohn *et al.*, 2004; Stern, 2005). Regarding pyrethroids, reconstructing exposures could be problematic. Since cypermethrin and permethrin share the same metabolites (*i.e.* *cis*- and *trans*- DCCA, 3-PBA) and don't have specific metabolite, the inverse solutions using PBPK model

are multiple. A realistic weighted based on exposure to cypermethrin and permethrin may help to solve the problem.

In this work, we propose to estimate the exposure to four widely used pyrethroids. To that end, we defined a methodology based on a realistic weighted exposure to cypermethrin and permethrin, PBPK modeling used in a Bayesian framework to reconstruct the exposure. The PBPK model was used to estimate men and women daily intakes for the four pyrethroids and their contribution to total exposure. Finally, we conducted a cumulative risk assessment of the mixture of pyrethroids.

Materials and Methods

Study population and biomonitoring data

The French Nutrition & Health Survey (ENNS study) was carried out by the French Institute for Public Health Surveillance (InVS) in 2006-2007 (Fréry *et al.*, 2011). The ENNS study was launched in the framework of the National Program on Nutrition & Health implemented in France in 2001. Urinary concentrations of pyrethroid metabolites (3-PBA, F-PBA, DBCA, *cis*- and *trans*-DCCA) were measured in 396 adults (257 women and 139 men) aged 18 to 74 years. These individuals were selected to have a representative sample of the French population. Age, body weight and food consumption based on questionnaires were collected for each study participant. First morning voids samples were also collected in order to measure the pyrethroids metabolites concentration and quantified by high performance liquid chromatography (Fréry *et al.*, 2011). The limit of detection (LOD) was 0.03 µg/L and the limit of quantification (LOQ) was 0.1 µg/L. A summary of the urinary concentrations is presented in Table 1.

Table 1: Summary of ENNS participants pyrethroids metabolites concentrations (µg/L) and effective of quantification (n total = 396, n women = 257, n men = 139).

	n > LOQ	Mean	SD	P5	P25	P50	P75	P95
<i>cis</i> -DCCA	222	0.66	1.60	0.11	0.14	0.24	0.53	1.71
Men	76	0.46	0.66	0.11	0.14	0.25	0.61	1.42
Women	146	0.76	1.91	0.11	0.15	0.23	0.51	2.55
<i>trans</i> -DCCA	341	1.20	4.05	0.12	0.20	0.33	0.81	4.28
Men	123	0.85	1.57	0.12	0.20	0.33	0.82	3.08
Women	218	1.40	4.93	0.12	0.20	0.34	0.77	5.25
DBCA	329	0.94	2.27	0.13	0.25	0.39	0.78	2.31
Men	124	1.00	2.48	0.14	0.25	0.44	0.80	2.19
Women	205	0.90	2.14	0.13	0.24	0.37	0.77	2.32
F-PBA	119	0.80	1.82	0.11	0.17	0.34	0.74	1.96
Men	43	0.77	1.85	0.12	0.20	0.36	0.66	1.38
Women	76	0.82	1.82	0.11	0.16	0.32	0.82	2.27
3-PBA	390	1.36	3.52	0.16	0.33	0.59	1.21	4.50
Men	137	1.05	1.29	0.16	0.35	0.64	1.22	3.26
Women	253	1.52	4.26	0.16	0.32	0.58	1.19	6.07

Determinants of exposure

Different descriptive statistical analyses were performed. Normality was checked using Shapiro's tests. The concentrations of urinary metabolites for men and women were log-transformed to satisfy the normality assumption. Sex, the quantification of urinary metabolites concentrations and higher concentrations of *cis*-DCCA compared to *trans*-DCCA were

included as qualitative variables. Body mass index, age, consumption of vegetables, fish, meat (never, rarely, often, always), tobacco smoking (daily, occasionally, no / already smoked, no / never smoked) were included as a four-categorized quantitative variable of identical sizes. To determine which groups are different from the others, we conducted post hoc tests (Student's t-test or Tukey's range test). R CRAN (<https://cran.r-project.org/>) was used to perform statistical analyses.

Overall methodological concept

The current study aims to estimate the exposure to pyrethroids for the French population. Towards this aim, the study included the following steps (Figure 3): i) an exposure ratio based on exposure through diet is calculated between permethrin and cypermethrin for each ENNS participant. Since oral route is the main source of exposure, mainly *via* food, we only consider food as the only pathway (Darney *et al.*, 2018; Juraske *et al.*, 2009; Quindroit *et al.*, 2019; Riederer *et al.*, 2008; Schettgen *et al.*, 2002), ii) estimation of individual daily intakes using a global PBPK model for pyrethroids (Quindroit *et al.*, 2019), collected ENNS data (urinary metabolites concentrations, age and body-weight of participants) and estimated ratio between permethrin and cypermethrin. Only daily intakes for cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin are estimated *via* the global PBPK model. The daily intakes for permethrin are directly calculated with the ratio., iii) a cumulative risk assessment was conducted to estimate the risk for the ENNS cohort.

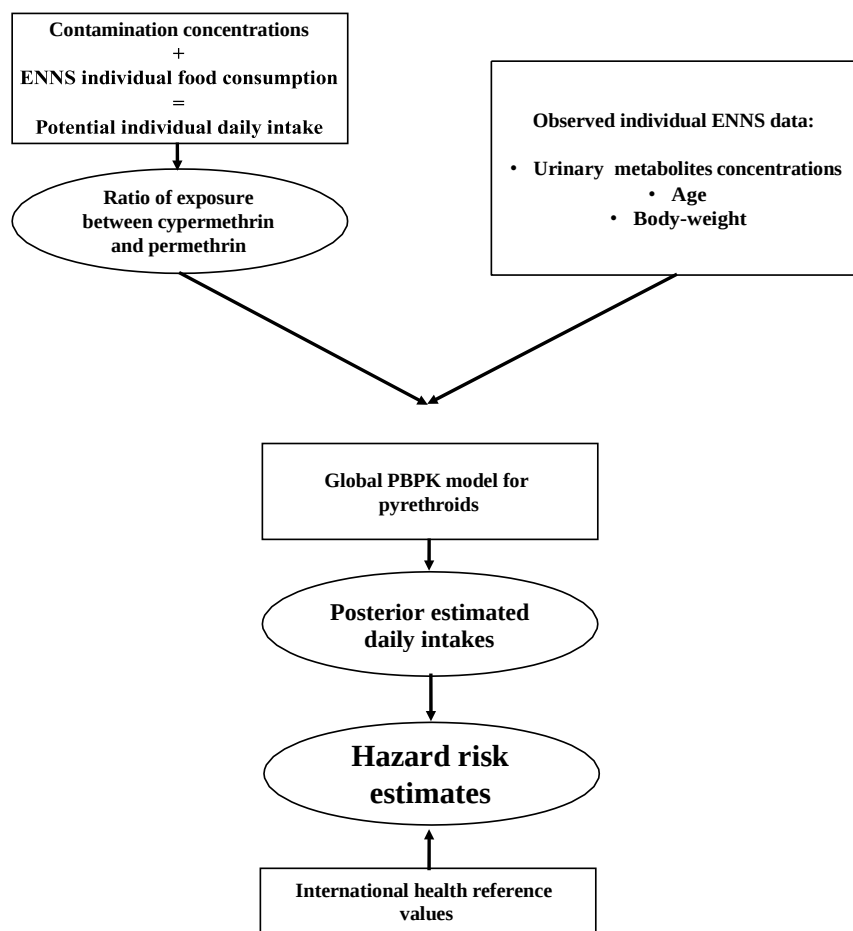


Figure 3: Exposure reconstruction conceptual framework (The rectangles represent data / PBPK model and the circles represent estimation).

Ratio of exposure between permethrin and cypermethrin and scenario

The ratio between permethrin and cypermethrin was estimated for each ENNS participant based on his/her food diary. In the diary, the participant has reported consumption of several food groups: fruits, vegetables, cereals, meat, fish, An estimate of chronic dietary intake for each participant was calculated for permethrin and cypermethrin using average food residue data from contamination control and food monitoring surveys carried out by the Ministry in charge of consumption (DGCCRF), the Ministry in charge of agriculture (DGAL) and the Ministry in charge of Health (DGS), from 2007 to 2013. The concentrations measured in each food were multiplied by the individual consumption of the participants in the ENNS study. When a compound was not detected in food, the concentration was set to the limit of detection divided by two (US EPA, 2000a). These dietary intake estimates were used to assign a ratio between permethrin and cypermethrin proportional to the estimated dietary exposures. A continuous scenario of exposure was considered. The exposure scenario taking into account the *cis* and

trans isomers ratios observed in the commercial formulations *i.e.* 40:60 *cis:trans* for permethrin and cyfluthrin, and 42:58 for cypermethrin.

PBPK model for pyrethroids

To describe the toxicokinetics of the pyrethroids in humans, a global physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model that links the external exposure to four pyrethroids and their isomers (*cis*- and *trans*-permethrin, *cis*- and *trans*-cypermethrin, *cis*- and *trans*-cyfluthrin and deltamethrin) to the urinary concentrations of their common metabolites (*cis*- and *trans*-DCCA, 3-PBA, F-PBA and DBCA) (Quindroit *et al.*, 2019). A PBPK model was used for each parent compound of the pyrethroids, and one-compartment models were used for the metabolites (Quindroit *et al.*, 2019). Except for parameters relating to physiology, the model was similar between men and woman and took into account 23 tissues compartments of the human body. The global PBPK model can be used to simulate the biomarkers of internal exposure by taking into account cumulative and aggregate exposure to pyrethroids.

Reverse dosimetry methodology

A Bayesian approach was applied to estimate the pyrethroid intakes among French population. For each ENNS individual, *a priori* uniform distribution was assigned to deltamethrin cypermethrin and cyfluthrin intakes. Permethrin intakes were calculated from predicted intakes of cypermethrin with the ratio between the two compounds. Inter-individual variability and uncertainty was introduced for fractions of metabolites formed. Truncated normal distributions were assigned to fractions of metabolites with a variation of 30 % of the mean value of the parameter and lower bound of 0.01 % of the mean value of the parameter and upper bound truncated at 1 (Table 2). The likelihood of the urinary concentrations of metabolites was assumed to follow a lognormal distribution with 15 % of error. To take into account urinary metabolite concentrations below LOQ, the likelihood of those measurements was computed as the cumulative normal density function (from $-\infty$ to 0.1, the LOQ). For each unquantified metabolite concentration, the model assigns a concentration below or close to the LOQ consistent with the other metabolite concentrations of the individual. Reverse dosimetry simulations were then performed to scale the initial intake to the measured pyrethroids urinary concentrations. The reverse dosimetry approach is based on the Bayes' formula:

$$P(DI|U) = \frac{P(U|DI)}{\sum [P(U|DI)]}$$

where DI is the daily intake, U is the metabolite urinary concentration observed, $P(DI|U)$ is the probability of a particular daily intake given the observed urinary concentration, $P(U|DI)$ is the probability of a specific urinary concentration predicted by the PBPK model at a given daily intake and the summation in the denominator is $P(U|DI)$ over all the daily intakes used as input to the PBPK model. Markov Chain Monte Carlo methods were used to estimate the posterior probability distributions using MCSim software (Bois, 2009). Four independent Markov chains of 6,000 iterations were run and one in two of the last 4,000 iterations were recorded. A stable posterior distribution was assumed to be reached when the convergence criterion $\hat{R}$ was below 1.2 (Gelman and Rubin, 1996).

Table 2: Distribution of fractions of metabolites formed. The mean, standard deviation, minimum and maximum are reported. The distributions are a truncated normal one.

	<i>Cis</i> -DCCA	<i>Trans</i> -DCCA	DBCA	3-PBA	F-PBA
Metabolite fractions					
<i>trans</i> -Permethrin	-	N(0.61,0.18) [0.12-1.00]	-	N(0.85,0.26) [0.17-1.00]	-
<i>cis</i> -Permethrin	N(0.37,0.11) [0.07-1.00]	-	-	N(0.37,0.11) [0.07-1.00]	-
<i>trans</i> -Cypermethrin	-	N(0.57,0.17) [0.11-1.00]	-	N(0.39,0.12) [0.08-1.00]	-
<i>cis</i> -Cypermethrin	N(0.32,0.10) [0.06-1.00]	-	-	N(0.16,0.05) [0.03-1.00]	-
<i>trans</i> -Cyfluthrin	-	N(0.35,0.11) [0.07-1.00]	-	-	N(0.23,0.07) [0.05-1.00]
<i>cis</i> -Cyfluthrin	N(0.27,0.08) [0.05-1.00]	-	-	-	N(0.10,0.03) [0.02-1.00]
Deltamethrin	-	-	N(0.73,0.22) [0.15-1.00]	N(0.15,0.05) [0.03-1.00]	-

Cumulative risk assessment

Hazard Index (HI) method was used for risk assessment of the pyrethroids mixture. HI was calculated according to the equation (US EPA, 2000b):

$$HI = \sum_{i=1}^n \frac{DI_i}{ADI_i}$$

where DI_i is the estimated daily intake, ADI_i is the Acceptable Daily Intake (or RfD or TDI) and n is the number of compounds. If HI exceeds 1, the mixture has exceeded the maximum acceptable level and there might thus be a cumulative risk. HI was calculated for each individual using the 95th percentile of daily intakes predictions.

Results

Statistical analyses of the biomonitoring data

Shapiro tests showed that urinary metabolite concentrations for both men and women were log-normally distributed (p values < 0.001). All the statistical tests were then performed with the log-normal transformed concentrations. An ANOVA showed that there was no significant difference in the distribution of urinary metabolite concentrations between men and women in the ENNS cohort. Based on the Student's t -test or Tukey's range test, the following statistically significant differences were pointed out: DBCA and 3-PBA urinary concentrations were significantly different between ages, with population enrolled in the ENNS study between 40 and 54 years old ($p < 0.002$). *trans*-DCCA concentration was associated to body mass indices between 25 and 29 ($p < 0.02$) and < 30 ($p < 0.01$). No significant differences were found between urinary metabolite concentrations and consumption of vegetables, fish, meat and tobacco.

As the levels of quantification in the urinary samples varies between the five metabolites (from 42% for *cis*-DCCA to 98% for 3-PBA), we carried out several statistical tests on the relationships between the metabolites' levels in urine. The independence of the quantification of the metabolites in urine was tested using Pearson's Chi-square tests. Only 3-PBA was not included in the analyses as the number of non-quantified samples was very low among the participants (6 over 396). Our results showed that *cis*-DCCA, *trans*-DCCA and DBCA were most often quantified in the same samples ($p < 0.05$). F-PBA non-quantification was independent of the three other metabolites ($p > 0.05$). ANOVA were then performed to assess the relationships between the metabolites' urinary concentrations by testing if the non-quantification of a metabolite influences the concentrations of the other metabolites. We observed that non-quantified levels of *cis*-DCCA were associated with low urinary concentrations of *trans*-DCCA ($p < 0.001$), DBCA ($p < 0.001$) and 3-PBA ($p < 0.001$). No impact on F-PBA concentrations was observed. Regarding *trans*-DCCA, the non-quantification was associated with low concentrations of DBCA ($p < 0.02$) and 3-PBA ($p < 0.001$). Similar trends were obtained for non-quantification of DBCA with *trans*-DCCA ($p < 0.01$) and 3-PBA ($p < 0.001$). No associations were identified for F-PBA. For 3-PBA, no tests were performed regarding the very low number of non-quantified samples (6 over 396). The Table 3 shows the sample sizes of the urinary samples of the non-quantified metabolites.

Table 3: Sample sizes of the urinary samples of the non-quantified metabolites (n=396).

		Cis-DCCA		Trans-DCCA		DBCA		FPBA		3-PBA	
		<LOQ	≥LOQ	<LOQ	≥LOQ	<LOQ	≥LOQ	<LOQ	≥LOQ	<LOQ	≥LOQ
Cis-DCCA	<LOQ	174	-	52	122	47	127	125	49	6	168
	≥LOQ	-	222	3	219	20	202	153	69	0	222
Trans-DCCA	<LOQ			55	-	23	32	40	15	5	50
	≥LOQ			-	341	44	297	238	103	1	340
DBCA	<LOQ					67	-	50	17	5	62
	≥LOQ					-	329	228	101	1	328
FPBA	<LOQ							278	-	5	273
	≥LOQ							-	118	1	117
3-PBA	<LOQ									6	-
	≥LOQ										390

Ratio of exposure between permethrin and cypermethrin

Based on the calculated daily intakes of cypermethrin and permethrin and, the corresponding mean ratios between the two compounds (permethrin/cypermethrin) were 0.56 (SD = 0.31, min = 0.09, max = 1.48) for men and 0.56 (SD = 0.36, min = 0.07, max = 1.54) for women. The estimated mean daily intake for men was 133.94 ng/kg bw/day (CV = 0.56) for permethrin and 292.17 ng/kg bw/day (CV = 0.74) for cypermethrin. For women, the estimated mean daily intake was 98.01 ng/kg bw/day (CV = 0.64) for permethrin and 223.00 ng/kg bw/day (CV = 0.64) for cypermethrin. These results are in the range of a pyrethroid ingestion exposure for the French population (Darney *et al.*, 2018). The main contributors to permethrin and cypermethrin in both men and women were apples, meat and salads.

Daily intakes estimate from ENNS biomonitoring data

The daily intakes of the four pyrethroids parent compounds were estimated by adjusting the global PBPK model to the HBM data. Some of the 396 ENNS participants were not included in the dose estimation process, as their individual data were too sparse to estimate the exposure to the pyrethroids of interest. Individuals for whom the concentrations of, at least, 3 metabolites were below the LOD were excluded. 16 individuals for men and 47 for women were then excluded. The profile of excluded individuals is presented in Table 4. Among the excluded individuals, for 90% of them the metabolite 3-PBA is quantified, 35% for DBCA, 29% for *trans*-DCCA, 8% for F-PBA and less than 2% for *cis*-DCCA. A total of 210 women and 123 men were considered in our analysis.

Table 4: Profile of individuals for whom at least three urinary metabolites are not quantified (crosses represent quantified urinary metabolites).

n	cis-DCCA	trans-DCCA	DBCA	F-PBA	3-PBA
21			X		X
18		X			X
12					X
5				X	X
5					
1	X				X
1			X		

The goodness-of-fit was assessed by comparing the measured and estimated urinary concentrations (Figure S1 and Figure S2 in the supplementary data). All the model estimated concentrations fall into the 2-fold error interval for men and women and all the coefficients of determination were close to 1.

The results of the exposure reconstruction for the four parent compounds for men and women are illustrated in Figure 4. For men, the median exposure levels have been estimated equal to 12.98 (CV = 2.03), 25.46 (CV = 1.76), 12.70 (CV = 3.29) and 39.66 (CV = 2.43) ng/kg bw/day for permethrin, cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin. The maximal estimated intake levels were respectively 586.77, 838.16, 1650.44 and 1697.46 ng/kg bw/day for permethrin, cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin. For women, the maximal exposure levels have been estimated equal to 19.61 (CV = 4.46), 40.43 (CV = 2.29), 19.19 (CV = 1.68) and 48.97 (CV = 4.76) ng/kg bw/day for permethrin, cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin. The maximal estimated intake levels were respectively 5208.12, 5200.42, 733.19 and 11293.70 ng/kg bw/day for permethrin, cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin.

The predictions of the PBPK model take into account the variability and uncertainty of the exposures and interindividual variability. The fractions of metabolites formed are the parameters with the most influence on urinary metabolite concentrations (Quindroit *et al.*, 2019). The distributions assigned to these parameters provide more variability in our predictions. In order to test the impact of the interindividual variability on the results, deterministic and probabilistic simulations for one individual were performed using: i) average parameter values, ii) distributions from Table 2. The estimated mean, 95th percentile and coefficients of variation are presented in Table 4. The results show greater variability with probabilistic simulation, especially in the estimation of the 95th percentiles. The coefficients of

variation are, on average, four times higher for cypermethrin and permethrin and two times for cyfluthrin and deltamethrin.

Table 5: Comparison of the estimated daily intake (mean, P95 and CV) with deterministic and probabilistic simulations.

ng/kg/day	Probabilistic simulation			Deterministic simulation		
	Mean	P95	CV	Mean	P95	CV
Permethrin	1.85	4.98	0.86	3.89	5.32	0.22
Cypermethrin	7.23	19.47	0.86	15.22	20.79	0.22
Cyfluthrin	64.71	88.42	0.21	50.35	59.15	0.10
Deltamethrin	75.50	112.09	0.29	44.21	56.29	0.16

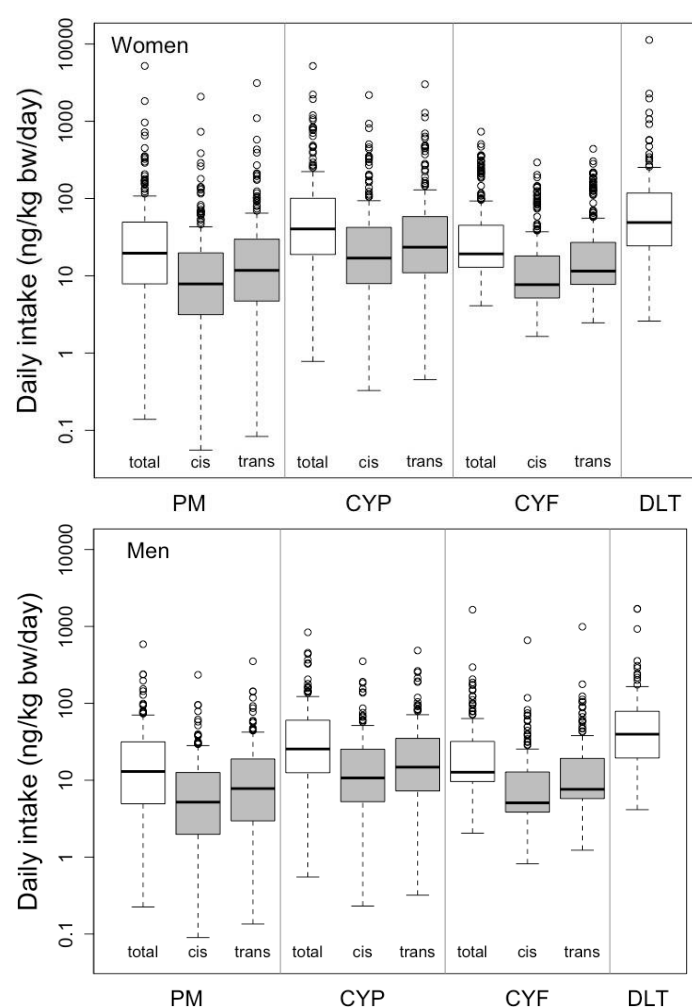


Figure 4: men and women estimated daily intakes for permethrin (PM), cypermethrin (CYP), cyfluthrin (CYF) and deltamethrin (DLT). The boxplot represents the median, the first, the third quartile, the minimum and the maximum.

Cumulative exposures were calculated based on the predicted median daily intakes for each individual. Contribution of each parent compounds to total exposure to pyrethroids were then calculated. The pie chart shows in Figure 5 that the men participants of the ENNS study seem more exposed to deltamethrin ($39 \pm 25\%$; P5 = 4% ; P95 = 82%), cypermethrin ($27 \pm 19\%$; P5 = 1% ; P95 = 60%), cyfluthrin ($20 \pm 20\%$; P5 = 3% ; P95 = 63%) and finally permethrin ($14 \pm 11\%$; P5 = 1% ; P95 = 33%). For women, the results are similar and were more exposed to deltamethrin ($35 \pm 25\%$; P5 = 2% ; P95 = 80%), cypermethrin ($30 \pm 19\%$; P5 = 1% ; P95 = 63%), cyfluthrin ($20 \pm 20\%$; min = 2% ; max = 65%) and finally permethrin ($15 \pm 12\%$; min = 1% ; max = 37%)

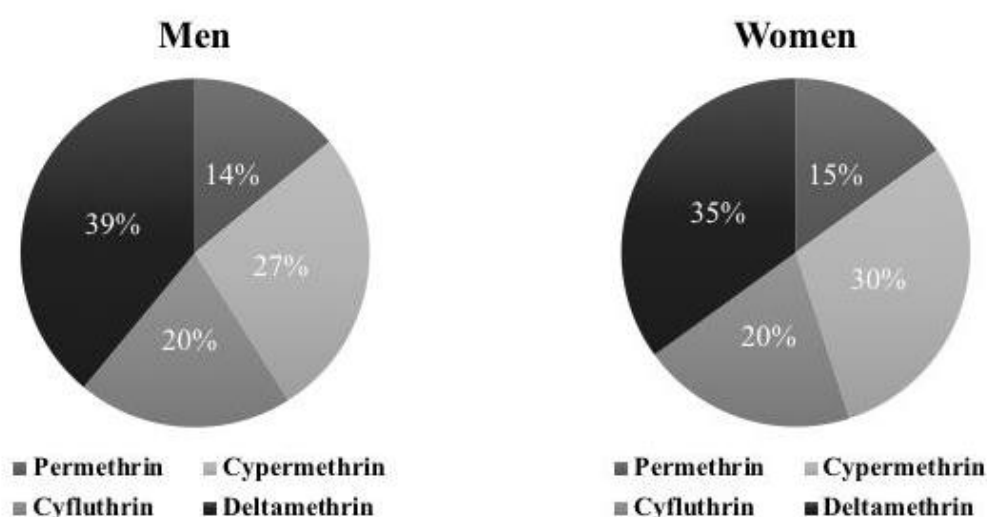


Figure 5: Average contribution of each parent compounds to total exposure to pyrethroids in men and women.

Darney *et al.* (2018) used data from French food contamination control and surveillance surveys coupled with consumption data from the ENNS study to estimate three scenarios of aggregate exposure to permethrin. The difference between the scenarios is related to the imputation to the censored data of food contamination. Our results for men and women show that the estimated levels are between the lower and intermediate scenarios (Table 6).

Table 6: Distribution of permethrin exposure from Darney et al. (2018) and our study.

Exposure ($\mu\text{g/kg bw/d}$)	Mean	Min	P25	P50	P75	Max
Men						
Scenario lower	0.0089	0.0001	0.0033	0.0057	0.0093	0.0891
Scenario intermediate	0.4200	0.1300	0.2800	0.3900	0.5100	1.5700
Scenario upper	0.8400	0.2500	0.5500	0.7700	1.0100	3.1300
Our study	0.0318	0.0003	0.0052	0.0130	0.0318	0.5972
Women						
Scenario lower	0.0086	0.0007	0.0035	0.0057	0.0098	0.0573
Scenario intermediate	0.4100	0.0600	0.2800	0.3700	0.5200	0.9800
Scenario upper	0.8200	0.1200	0.5700	0.7300	1.0200	1.9600
Our study	0.0897	0.0002	0.0081	0.0196	0.0500	5.2868

Aylward *et al.* (2018) calculated daily intakes for permethrin, cypermethrin and deltamethrin. Chronic dietary intakes were calculated by combining the average food residue (mg/kg food) from the USDA PDP database (2002–2011) with consumption data (g food/kg bw/day) for persons aged 6–79 years old from the US EPA Food Commodity Intake Database (2005–2010). The results in the Table 7 show that the American population is more exposed to permethrin, cypermethrin and finally deltamethrin. Conversely, the French population is more exposed to deltamethrin, cypermethrin and finally permethrin.

Table 7: Comparison of the 75th percentile of chronic dietary intake estimated by Aylward *et al.* (2018) for permethrin, cypermethrin and deltamethrin with our estimated 75th percentile for the French population of ENNS study.

P75 ($\mu\text{g/kg bw/d}$)	Aylward <i>et al.</i> (2017)	Our study Mean	Our study Men	Our study Women
Permethrin	1.800	0.041	0.032	0.050
Cypermethrin	0.610	0.082	0.061	0.102
Deltamethrin	0.002	0.105	0.086	0.123

Cumulative risk assessment

The health reference values for the general population based on the chronic dietary exposure are presented for the four pyrethroids in Table 8. This exposure pathway was judged to be the most relevant for interpretation of general population biomonitoring data for pyrethroids. All the reference values are based on signs of pyrethroid neurotoxicity in animal studies. The ADIs were chosen according to the values derived the Joint Food and Agriculture (FAO)/ World Health Organization (WHO) Meetings on Pesticide Residues (JMPR), United States Environmental Protection Agency (US EPA) and Health Canada. Traditionally, the 95th

percentile of exposures is used in risk assessment. The most restrictive ADIs were used: 50 $\mu\text{g/kg bw/d}$ for permethrin, 20 $\mu\text{g/kg bw/d}$ for cypermethrin, 20 $\mu\text{g/kg bw/d}$ for cyfluthrin and 10 $\mu\text{g/kg bw/d}$ for deltamethrin. The cumulative risk values (HI) were calculated for each individual and shown in Figure 6. For men, the median HI have been estimated equal to 0.0023 (max = 0.0497) and equal to 0.0033 (max = 0.3061) for women. No risk associated to the cumulative exposure to the four pyrethroids was observed for the French ENNS population (Figure 6).

Table 8: Reference values from the Joint Food and Agriculture (FAO)/ World Health Organization (WHO) Meetings on Pesticide Residues (JMPR), US EPA and Health Canada.

Molecule	ADI ($\mu\text{g/kg bw/d}$)	Organization
Permethrin	250	US EPA
	50	JMPR
Cypermethrin	60	US EPA
	20	JMPR
	20	JMPR
Cyfluthrin	200	Health Canada
	40	FAO/WHO
	240	US EPA
Deltamethrin	10	US EPA
	10	JMPR

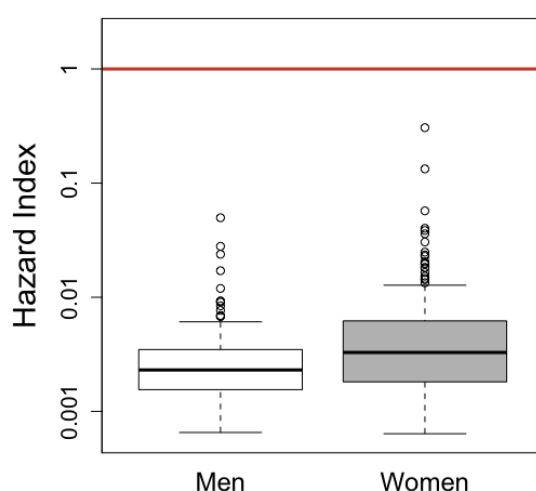


Figure 6: HI for men and women based on the 95th percentile daily intakes and ADIs for pyrethroids

Discussion

Measuring levels of chemicals in human body fluids and tissues has been in routine use in industry and parts of the wider public health community for more than 50 years. Currently, many countries like the United States, Canada, Germany, Denmark, Czech Republic, Belgium and France have established biomonitoring programmes that report representative values of selected biomonitoring values in general populations (CDC, 2011; Černá *et al.*, 1997; Fréry *et al.*, 2011; Health Canada, 2010; Kolossa-Gehring *et al.*, 2012; Schoeters *et al.*, 2012; Thomsen *et al.*, 2008; Wojtyniak *et al.*, 2010).

Human Biomonitoring Values (HBM-I and HBM-II) (Apel *et al.*, 2017) and Biomonitoring Equivalents (BEs) (Hays and Aylward, 2009) have been developed for over 10 years for interpreting biomonitoring results for specific chemicals in a health risk context. The use of HBM surveys in combination with HBM values or BEs will allow initial screening of population exposure to chemicals, assisting in priority setting and ultimately leading to improved product stewardship and risk management, and the use of actual HBM data coupled with the corresponding BEs has the advantage of allowing a risk assessment under real-world conditions. When HBMs exceed BEs, a more in-depth method is needed to estimate the exposure of the population. This is the case in our study with the BE developed by Aylward *et al.* (2018) for the 3-PBA. Tier 2 is not applicable for the ENNS population since it was developed for the American populations. It is necessary to use a different method. To better understand the correlation between biomonitoring data and environmental exposure, PBPK modeling can be of use. Based on the urinary levels of morning void and using the exposure reconstruction framework described above, daily intakes were estimated. A HI was calculated using the predicted 95th percentile of daily intakes for both men and women to estimate a potential risk for the ENNS population. The risk seems to be very low since the HI is always smaller than 1.

The urinary concentrations of the ENNS population are first-morning-void samples. The reliability of single-spot urine to represent pyrethroid exposure profile in individuals over time is questionable due to the episodic nature of exposure and toxicokinetics (*i.e.*, short half-life). Aylward *et al.* (2017) showed that spot sample concentrations of short half-life chemicals were similar to the slightly higher concentrations of the distribution of all 24 h composite void, but tended to overestimate the maximum of the multiday concentration averages for most analytes

(usually by less than a factor of 2). To better characterize average exposure over a long period of time, collection and analysis of repeated samples are needed (Li *et al.*, 2019).

The scenario chosen in this study is a continuous exposure. This scenario may not represent the real-world conditions. A more realistic scenario could be envisaged by estimating several daily intakes at meal times (*e.g.* breakfast, lunch and dinner) which precede the measurement of urinary metabolites. Additional information on the lifestyle of the ENNS population is then necessary to develop a new scenario. Other routes of exposure may also be added such as inhalation or dermal contact. The global PBPK model developed by Quindroit *et al.* (2019) for pyrethroids already integrates the three main exposure pathways.

The use of PBPK models to interpret biomarker data may be limited by the nonuniqueness of inverse solutions. Since cypermethrin and permethrin share the same metabolites and don't have specific metabolite, it was not possible to determine which portion of urinary concentrations is attributable to one or the other parent compounds. Our strategy was to calculate a realistic weighted exposure ratio between permethrin and cypermethrin and to estimate the daily intakes of permethrin using this ratio. The estimate of the daily intake of permethrin is therefore not directly derived from inverse dosimetry but from the estimation of the daily intake of cypermethrin. The results of the weighted exposure using food diaries and food contamination show that the ENNS population is more exposed to cypermethrin than to permethrin. This strategy seems to be the most realistic for dealing with the nonuniqueness of inverse solutions in the case of pyrethroids. These results are consistent with real-world exposure since in 2000, European regulations classified permethrin as an unapproved active substance for agricultural use.

One of the important elements of reverse dosimetry is the processing of censored data. Sometimes, some contaminants are not detected. It does not necessarily mean that the contaminant is not present, but that the concentration is below the level that can be reliably detected or quantified by the analytical method used. Different methodologies make it possible to consider these censored data. Relatively simple methods consider unquantified data to be 0 or half the limit of detection/quantification of analytical measurements, or equal to this limits (EFSA, 2012; US EPA, 2000a). Depending on the methodology used, there is potentially a risk of underestimating the risk considering zero contamination. In our study, the concentrations below LOQ was computed as the cumulative normal density function. This method makes it possible to find a balance between a risk of underestimation (*i.e.* unquantified = 0) or overestimation (*i.e.* unquantified = LOQ) of the exposure.

The exclusion of individuals for whom at least three metabolites are not quantified can have an impact on the predicted daily intakes. For 21 individuals excluded, only urine concentrations of DBCA and 3-PBA were quantified and may therefore lead to an underestimation of deltamethrin exposure. Conversely, 58 individuals excluded had urinary F-PBA concentrations below LOQ and likely overestimate cyfluthrin exposure.

The daily intakes estimated by reverse dosimetry were compared with existing values for the French and the American populations. Daily intakes for permethrin and for the French population are between the lower and intermediate scenarios estimated by Darney *et al.* (2018). In 2000, European regulations classified permethrin as an active substance not approved for agricultural use. Its contamination of food should thus be closer to the hypothesis formulated in the “lower” scenario, *i.e.* considered as zero, this scenario appearing to be more realistic. There are large differences between the 95th percentiles estimated by Aylward *et al.* (2018) for the American population and those of our study. There are several reasons for these differences. First of all, the daily intakes estimated by Aylward *et al.* (2018) are for a population of 6 to 79 years, whereas it only includes adults in ENNS study. Aylward *et al.* (2018) took into account for children the non-dietary contact which, as we know, can significantly increase exposure in this population. The differences between countries could be explained by the variety of agricultural practices related to different types of crops, climate, dietary habits and other lifetime characteristics, especially the indoor use of pesticides. Indeed, permethrin is one of the most used pyrethroid compounds in the United States while it is banned in Europe for agricultural use.

The results of the statistical analysis showed that there were correlations between the non-quantification of one metabolite and the level of the other metabolites. The correlation between *trans*-DCCA and *cis*-DCCA seems obvious since these two metabolites share the same parent compounds (*i.e.* permethrin, cypermethrin and cyfluthrin). Same for 3-PBA and the correlation with *cis*- and *trans*-DCCA and DBCA. These three metabolites share two parent compounds for *cis*- and *trans*-DCCA (*i.e.* cypermethrin and permethrin) and one for DBCA (*i.e.* deltamethrin). The correlation between DBCA and DCCA may be related to agricultural practice patterns of mixtures of parent compounds forming these two metabolites.

In this article we presented a method for interpreting biomonitoring data in the context of the exposure–health evaluation–risk assessment continuum. This method has been developed specifically for compounds such as pyrethroids that have common metabolites. We aimed to reconstruct the exposure of French men and women to four pyrethroids using urinary

metabolites concentrations, exposure scenarios, probabilistic simulations and PBPK modeling. From a spot concentration and information about the potential exposure, the PBPK model simulates the potential daily intakes of some of pyrethroids used in France. Repeat measures data are needed to better inform real-world exposure and clarify highest levels. To our knowledge, this is the first time that the reverse dosimetry approach using a PBPK model has been used to estimate cumulative exposure to a mixture of pyrethroids. The inclusion of other parent compounds of interest such as lambda-cyhalothrin could be an interesting next step.

Conflict of interest declaration

The authors declare that they have no conflict of interest.

Funding

This work was supported by the French Ministry of Ecology and Sustainable Development (Program 190).

Acknowledgements

We are grateful to the Nutritional Surveillance and Epidemiology Unit (USEN) which conducted the ENNS study with support from the French Institute for Public Health Surveillance (InVS) and the University of Paris 13.

References

- Angerer, J., Aylward, L.L., Hays, S.M., Heinzow, B., Wilhelm, M., 2011. Human biomonitoring assessment values: Approaches and data requirements. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 214, 348–360.
- Angerer, J., Ewers, U., Wilhelm, M., 2007. Human biomonitoring: state of the art. *Int J Hyg Environ Health* 210, 201–228.
- Apel, P., Angerer, J., Wilhelm, M., Kolossa-Gehring, M., 2017. New HBM values for emerging substances, inventory of reference and HBM values in force, and working principles of the German Human Biomonitoring Commission. *Int J Hyg Environ Health* 220, 152–166.
- Aylward, L.L., Brunet, R.C., Starr, T.B., Carrier, G., Delzell, E., Cheng, H., Beall, C., 2005. Exposure reconstruction for the TCDD-exposed NIOSH cohort using a concentration- and age-dependent model of elimination. *Risk Anal.* 25, 945–956.
- Aylward, L.L., Irwin, K., St-Amand, A., Nong, A., Hays, S.M., 2018. Screening-level Biomonitoring Equivalents for tiered interpretation of urinary 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA) in a risk assessment context. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 92, 29–38.
- Aylward, L.L., Krishnan, K., Kirman, C.R., Nong, A., Hays, S.M., 2011. Biomonitoring equivalents for deltamethrin. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 60, 189–199.
- Bois, F.Y., 2009. GNU MCSim: Bayesian statistical inference for SBML-coded systems biology models. *Bioinformatics* 25, 1453–1454.
- Bois, F.Y., Brochot, C., 2016. Modeling Pharmacokinetics. *Methods Mol Biol* 1425, 37–62.
- Brochot, C., Casas, M., Manzano-Salgado, C., Zeman, F.A., Schettgen, T., Vrijheid, M., Bois, F.Y., 2019. Prediction of maternal and foetal exposures to perfluoroalkyl compounds in a Spanish birth cohort using toxicokinetic modelling. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 379, 114640.
- CDC, 2011. Fourth national report on human exposure to environmental chemicals.
- Černá, M., Spěváčková, V., Čejchanová, M., Beneš, B., Rössner, P., Bavorová, H., Očadlíková, D., Šmíd, J., Kubínová, R., 1997. Population-based biomonitoring in the Czech Republic — the system and selected results. *Science of The Total Environment* 204, 263–270.

- Corbel, V., N'Guessan, R., 2013. Distribution, Mechanisms, Impact and Management of Insecticide Resistance in Malaria Vectors: A Pragmatic Review. *Anopheles mosquitoes - New insights into malaria vectors*.
- Darney, K., Bodin, L., Bouchard, M., Côté, J., Volatier, J.-L., Desvignes, V., 2018. Aggregate exposure of the adult French population to pyrethroids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 351, 21–31.
- Dereumeaux, C., Saoudi, A., Gorla, S., Wagner, V., De Crouy-Chanel, P., Pecheux, M., Berat, B., Zaros, C., Guldner, L., 2018. Urinary levels of pyrethroid pesticides and determinants in pregnant French women from the Elfe cohort. *Environ Int* 119, 89–99.
- EC, 2002. Review report for the active substance deltamethrin. 6504/VI/99-final.
- EFSA, 2012. Guidance on the Use of Probabilistic Methodology for Modelling Dietary Exposure to Pesticide Residues. *EFSA Journal* 10, 2839.
- Feo, M.L., Eljarrat, E., Barceló, D., Barceló, D., 2010. Determination of pyrethroid insecticides in environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry, Green analytical chemistry* 29, 692–705.
- Fréry, N., Saoudi, A., Gamier, R., Zeghnoun, A., Falq, G., 2011. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice.
- Gelman, A., Rubin, D.B., 1996. Markov chain Monte Carlo methods in biostatistics. *Stat Methods Med Res* 5, 339–355.
- Georgopoulos, P., Roy, A., Gallo, M.A., 1994. Reconstruction of short-term multi-route exposure to volatile organic compounds using physiologically based pharmacokinetic models. *Journal of exposure science & environmental epidemiology* 4, 309–328.
- Hays, S.M., Aylward, L.L., 2009. Using Biomonitoring Equivalents to interpret human biomonitoring data in a public health risk context. *J Appl Toxicol* 29, 275–288.
- Hays, S.M., Aylward, L.L., Gagné, M., Krishnan, K., 2009. Derivation of Biomonitoring Equivalents for cyfluthrin. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 55, 268–275.
- Hays, S.M., Becker, R.A., Leung, H.W., Aylward, L.L., Pyatt, D.W., 2007. Biomonitoring equivalents: A screening approach for interpreting biomonitoring results from a public health risk perspective. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 47, 96–109.

Health Canada, 2010. Report on Human Biomonitoring of Environmental Chemicals in Canada.

JMPR, 2006. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues in Food 2006. 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 on Pesticide Residues, Rome, Italy, 3–12 October 2006.

JMPR, 2000. Pesticide residues in food 2000: Deltamethrin.

Juraske, R., Mutel, C.L., Stoessel, F., Hellweg, S., 2009. Life cycle human toxicity assessment of pesticides: comparing fruit and vegetable diets in Switzerland and the United States. *Chemosphere* 77, 939–945.

Kolossa-Gehring, M., Becker, K., Conrad, A., Schröter-Kermani, C., Schulz, C., Seiwert, M., 2012. Environmental surveys, specimen bank and health related environmental monitoring in Germany. *Int J Hyg Environ Health* 215, 120–126.

Li, A.J., Martinez-Moral, M.-P., Kannan, K., 2019. Temporal variability in urinary pesticide concentrations in repeated-spot and first-morning-void samples and its association with oxidative stress in healthy individuals. *Environment International* 130, 104904.

Moreau, M., Leonard, J., Phillips, K.A., Campbell, J., Pendse, S.N., Nicolas, C., Phillips, M., Yoon, M., Tan, Y.-M., Smith, S., Pudukodu, H., Isaacs, K., Clewell, H., 2017. Using exposure prediction tools to link exposure and dosimetry for risk-based decisions: A case study with phthalates. *Chemosphere* 184, 1194–1201.

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

Riederer, A.M., Bartell, S.M., Barr, D.B., Ryan, P.B., 2008. Diet and nondiet predictors of urinary 3-phenoxybenzoic acid in NHANES 1999-2002. *Environ. Health Perspect.* 116, 1015–1022.

Saillenfait, A.-M., Ndiaye, D., Sabaté, J.-P., 2015. Pyrethroids: exposure and health effects--an update. *Int J Hyg Environ Health* 218, 281–292.

Sarigiannis, D.A., Tratnik, J.S., Mazej, D., Kosjek, T., Heath, E., Horvat, M., Anesti, O., Karakitsios, S.P., 2019. Risk characterization of bisphenol-A in the Slovenian population starting from human biomonitoring data. *Environ. Res.* 170, 293–300.

Schettgen, T., Heudorf, U., Drexler, H., Angerer, J., 2002. Pyrethroid exposure of the general population-is this due to diet. *Toxicol. Lett.* 134, 141–145.

Schoeters, G., Den, E.H., Colles, A., Loots, I., Morrens, B., Keune, H., Bruckers, L., Nawrot, T., Sioen, I., De, S.C., Van, N.L., Nelen, V., Van, E. de M., Vrijens, J., Croes, K., Goeyens, K., Baeyens, W., 2012. Concept of the Flemish human biomonitoring programme. *Int J Hyg Environ Health* 215, 102–108.

Sohn, M.D., McKone, T.E., Blancato, J.N., 2004. Reconstructing population exposures from dose biomarkers: inhalation of trichloroethylene (TCE) as a case study. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 14, 204–213.

Starr, J., Graham, S., Stout, 2nd D., Andrews, K., Nishioka, M., 2008. Pyrethroid pesticides and their metabolites in vacuum cleaner dust collected from homes and day-care centers. *Environ Res* 108, 271–279.

Stern, A.H., 2005. A revised probabilistic estimate of the maternal methyl mercury intake dose corresponding to a measured cord blood mercury concentration. *Environ. Health Perspect.* 113, 155–163.

Thomsen, M., Knudsen, L., Vorkamp, K., Frederiksen, M., Bach, H., Bonefeld-Jørgensen, E.C., Rastogi, S., Fauser, P., Krongaard, T., Sørensen, P., 2008. Conceptual framework for a Danish human biomonitoring program. *Environmental health : a global access science source* 7 Suppl 1, S3.

Ueyama, J., Saito, I., Kamijima, M., 2010. Analysis and evaluation of pyrethroid exposure in human population based on biological monitoring of urinary pyrethroid metabolites. *J. Pestic. Sci.* 1003050115–1003050115.

US EPA, 2010. Deltamethrin. Human Health Assessment Scoping Document in Support of Registration Review. EPA-HQ OPP-2009-0637-0004. Office of Prevention, Pesticides, and Toxic Substances.

US EPA, 2002. Cyfluthrin: pesticide tolerance. *Federal Register* 67, 60976–60991.

US EPA, 2000a. Assigning Values to Non-detected /non-quantified Pesticide Residues in Human Health Food Exposure Assessments. Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency.

US EPA, 2000b. Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures.

Williams, M.K., Rundle, A., Holmes, D., Reyes, M., Hoepner, L.A., Barr, D.B., Camann, D.E., Perera, F.P., Whyatt, R.M., 2008. Changes in pest infestation levels, self-reported pesticide use, and permethrin exposure during pregnancy after the 2000-2001 U.S. Environmental Protection Agency restriction of organophosphates. *Environ. Health Perspect.* 116, 1681–1688.

Wojtyniak, B.J., Rabczenko, D., Jönsson, B.A., Zvezday, V., Pedersen, H.S., Rylander, L., Toft, G., Ludwicki, J.K., Góralczyk, K., Lesovaya, A., Hagmar, L., Bonde, J.P., the INUENDO research group, 2010. Association of maternal serum concentrations of 2,2', 4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB-153) and 1,1-dichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl)-ethylene (p,p'-DDE) levels with birth weight, gestational age and preterm births in Inuit and European populations. *Environmental Health* 9, 56.

Discussion générale et Perspectives

L'objectif de ma thèse était de développer un outil qui permettrait d'interpréter les données de biosurveillance pour les pyréthrinoïdes tout en prenant en compte une exposition cumulée et agrégée des hommes et des femmes aux principaux composés, ce qui n'avait jamais été réalisé. La biosurveillance humaine des pyréthrinoïdes se basant sur la mesure des métabolites urinaires des composés parents, l'outil devait être adapté à ces biomarqueurs utilisés lors des campagnes de biosurveillance effectuées en France. Les deux dernières campagnes de biosurveillance réalisées en France pour la population générale et chez les femmes enceintes ont mesuré cinq métabolites urinaires dans ces populations : 3-PBA, F-PBA, DBCA, *cis*- et *trans*-DCCA (Dereumeaux *et al.*, 2018; Fréry *et al.*, 2011). Certains métabolites étant spécifiques à un composé parent et d'autres communs à plusieurs composés, cette spécificité devait aussi être prise en compte. Les composés sont commercialisés en tant que mélange d'isomères *cis* et *trans* avec des proportions variables en fonction des composés (généralement autour de *cis/trans* : 40/60). Les composés pris en considération sont la *cis*- et *trans*-perméthrine, la *cis*- et *trans*-cyperméthrine, la *cis*- et *trans*-cyfluthrine et la deltaméthrine. La deltaméthrine n'est prise en compte que sous sa forme *cis* puisqu'elle est toujours commercialisée sous cette forme.

Dans une première partie, nous avons développé un modèle PBPK global pour relier l'exposition externe de quatre pyréthrinoïdes (perméthrine, cyperméthrine, cyfluthrine et deltaméthrine) et de leurs isomères aux concentrations urinaires de métabolites (*cis*- et *trans*-DCCA, 3-PBA, F-PBA et DBCA). La paramétrisation du modèle PBPK global était un vrai challenge. En effet, pour chaque composé parent et chaque isomère, trente paramètres étaient nécessaires. Pour réaliser cette paramétrisation, différentes études ont été utilisées en privilégiant les données humaines *in vivo*, les données humaines *in vitro*, les données animales *in vivo* et la modélisation QSAR.

Dans un second temps, le modèle PBPK global a été utilisé avec une approche *forward* et une approche par dosimétrie inverse et ce, afin d'estimer l'exposition de la population de l'enquête ENNS aux pyréthrinoïdes. Tout d'abord, un scénario d'exposition relativement simple a été élaboré afin de démontrer que le modèle PBPK global était capable de reproduire les biomarqueurs d'exposition mesurés dans l'étude. Puis, un modèle d'exposition probabiliste prenant en compte plus de sources de contamination et dans lequel trois scénarios différents ont

été élaborés, a été couplé au modèle PBPK global. Ce travail a été réalisé en collaboration avec des chercheurs de l'ANSES dans le cadre du projet européen EuroMix.

Enfin, l'approche par dosimétrie inverse a été utilisée afin d'estimer la dose d'exposition orale de la population de l'étude ENNS aux pyréthriinoïdes. Des problèmes d'identifiabilité liés aux métabolites communs ont pu être contournés grâce à une méthode basée sur la pondération de l'exposition entre les composés parents. Malgré quelques limites concernant des profils pour lesquels il existe peu de données de biosurveillance quantifiées, cette méthodologie a fait ses preuves et pourrait être utilisée pour d'autres cohortes.

Ces travaux ont mis en évidence le potentiel du modèle PBPK global pour une utilisation dans un contexte d'évaluation du risque lié aux pyréthriinoïdes. Ainsi, les résultats obtenus permettent de tirer certaines conclusions.

Apport du modèle PBPK global pour l'évaluation du risque

Le modèle PBPK global développé dans notre travail vient confirmer que l'établissement d'une structure de modèle PBPK générique pour les pyréthriinoïdes est possible. La description de la cinétique du composé parent dans le sang, les tissus adipeux, le foie, le cerveau, la peau, les reins, les tissus lentement et rapidement perfusés ainsi que la cinétique des métabolites, est décrite de la même façon. La mise en équation des processus ADME dans le corps humain est donc identique. Dès 2007, l'US EPA proposait une structure commune et la prise en compte des isomères dans la construction d'un modèle PBPK générique pour les pyréthriinoïdes (US EPA, 2007). Le modèle PBPK global développé permet de simuler les expositions cumulées agrégées par des voies multiples (inhalation, ingestion et contact cutané). A notre connaissance, c'est le premier modèle qui permet de prendre en compte l'exposition cumulée et agrégée aux pyréthriinoïdes. Un autre élément important est à retenir de nos travaux est qu'il est dorénavant possible de déterminer les voies d'exposition majoritaires d'une part mais aussi, la part des composés parents attribuable aux concentrations urinaires de métabolites. A titre d'exemple, nos travaux ont montré que la population française de l'étude ENNS semblait plus exposée à la deltaméthrine, puis à la cyperméthrine et enfin à la cyfluthrine et la perméthrine. En outre, la voie orale et principalement *via* l'ingestion d'aliments contaminés, paraît être la source majoritaire d'exposition.

Données nécessaires afin d'améliorer notre outil d'interprétation de la biosurveillance humaine

Tout d'abord concernant le modèle PBPK global et son évaluation, plusieurs données seraient nécessaires. La paramétrisation du modèle PBPK global a mis en lumière des manques dans notre étude. Tout d'abord, le manque de données humaines et animales pour l'absorption, l'excrétion et les coefficients de perméabilité pour la cyperméthrine et la cyfluthrine. Les différentes études chez l'animal et les humains ont montré des différences de cinétique et de métabolisme entre les différents composés et entre les différentes voies d'exposition. De plus, ces mêmes études ont montré des différences de cinétique et de métabolisme entre les isomères *cis* et *trans*. Hormis pour la perméthrine, nous n'avions pas de données isomères spécifiques pour les composés parents. Des études supplémentaires nous permettraient d'estimer les différences entre les deux isomères et ainsi de pouvoir paramétrer notre modèle d'une manière plus adéquate. De plus, des données supplémentaires sont nécessaires pour évaluer les prédictions du modèle PBPK global. En effet, seules neuf études étaient disponibles pour l'évaluation du modèle et les composés parents n'ont pas pu être évalués pour l'ensemble des voies d'exposition. A titre d'exemple, la deltaméthrine n'a été évaluée que par voie orale. Les résultats de l'analyse de sensibilité menée dans notre travail, a permis d'identifier les paramètres pour lesquels des efforts de recherche supplémentaires devraient être réalisés. Les résultats montrent que ce sont très largement les fractions de métabolites formées qui sont les paramètres pour lesquels des données supplémentaires sont nécessaires. Des études d'exposition de volontaires à des composés parents et la mesure des métabolites urinaires dans le temps, permettraient d'obtenir plus d'informations sur ces paramètres.

La principale difficulté concernant le modèle d'exposition a été de traiter les données censurées et notamment pour les données de contamination des aliments de l'étude EAT 2. Le choix a été fait de prendre en compte un scénario moyen en considérant la LOD/2 pour les concentrations non détectées. Une des limites est la faible détection des pyréthrinoïdes dans les aliments. De manière générale, les études de l'alimentation totale ont pour objectif de mesurer la contamination des aliments pour un large spectre de substances. Les LOD et LOQ utilisées ne sont pas spécifiques aux pyréthrinoïdes, d'où la faible détection dans les aliments. Des LOD et LOQ plus faibles permettraient d'améliorer la précision des modèles d'exposition pour ces composés. De plus, les scénarios ne tiennent pas compte de la présence probable de métabolites dans l'environnement ou dans les aliments. Les métabolites sont plus hydrophiles que les

composés parents et une fois ingérés, ils seront peu absorbés. À notre connaissance, il n'existe qu'une étude récente de la présence de 3-PBA dans les sols agricoles au Portugal mais les quantités retrouvées sont très faibles (~ 23 ng/g) (Bragança *et al.*, 2019). Il est donc peu probable que les métabolites retrouvés dans l'environnement aient un impact significatif sur l'exposition des populations.

Enfin les concentrations urinaires de la population ENNS sont des échantillons de première urine du matin. La fiabilité d'un prélèvement unique pour représenter le profil d'exposition aux pyréthriinoïdes chez les individus est discutable en raison de la nature épisodique de l'exposition et de la toxicocinétique (demi-vie de l'ordre de quelques heures). Pour mieux caractériser l'exposition moyenne sur une longue période, il est nécessaire de collecter et d'analyser des échantillons répétés. Aylward *et al.* (2017) ont comparé les variations de concentrations urinaires entre un spot urinaire, des échantillons prélevés sur 24 heures et des concentrations urinaires sur plusieurs jours pour des substances avec des demi-vies courtes. Les résultats montrent que le spot urinaire avait tendance à surestimer les concentrations urinaires maximums par rapport aux concentrations sur plusieurs jours. Il serait intéressant lors de l'élaboration des futures campagnes de biosurveillance de prendre en compte ces remarques afin d'être en mesure de mieux caractériser l'exposition des populations aux composés non- persistants.

Application du modèle global PBPK à d'autres cas d'études

Malgré le manque d'informations qui permettraient de construire un modèle d'exposition fiable pour la population, nous avons vu que les prédictions de concentrations urinaires des métabolites étaient relativement proches de celle de l'étude ENNS. Afin de confirmer ces résultats prometteurs, il faudrait appliquer le modèle PBPK global à d'autres cohortes françaises ou étrangères. En Europe, en Amérique du Nord et en Asie plusieurs campagnes de biosurveillance ont quantifié les cinq principaux métabolites des pyréthriinoïdes dans les urines de la population générale. En couplant un modèle d'exposition avec les données de contamination dans l'environnement et le modèle PBPK global, il est possible de comparer les prédictions avec les concentrations urinaires des différentes cohortes. Ce travail pourrait facilement être réalisé pour la cohorte américaine NHANES. En effet, le modèle SHEDS-Multimedia est très largement utilisé aux Etats-Unis pour estimer l'exposition de la population *via* une exposition alimentaire ou résidentielle. En couplant ce modèle avec le modèle PBPK global pour les pyréthriinoïdes, nous pourrions évaluer la fiabilité des prédictions. Ce travail a

déjà en partie était réalisé par Tornero-Velez *et al.* (2012) mais en prenant en compte uniquement la *cis*- et la *trans*-perméthrine pour prédire les concentrations urinaires de *cis*- et *trans*-DCCA chez les enfants, les adolescents et les adultes. Enfin, l'approche par dosimétrie inverse pourrait être appliquée. La méthode développée dans la deuxième partie de notre travail et notamment la prise en compte des concentrations urinaires non quantifiées, a montré des résultats probants. Néanmoins, pour éviter des problèmes d'identifiabilité liés aux métabolites communs, le calcul d'un ratio pondéré sur les expositions à la cyperméthrine et la perméthrine est nécessaire.

Vers un outil pour les populations sensibles

En France, le volet périnatal du programme national de biosurveillance mis en œuvre au sein de la cohorte Elfe avait pour objectif de caractériser l'imprégnation de 1 036 femmes enceintes par les polluants de l'environnement en 2011. Les résultats pour les pyréthrinoïdes (Dereumeaux *et al.*, 2018) montrent que les femmes enceintes françaises semblent sous exposées par rapport aux femmes enceintes chinoises (Qi *et al.*, 2012) et aux femmes adultes de l'étude ENNS mais surexposées par rapport aux femmes enceintes américaines (Barr *et al.*, 2010). L'étude Elfe a aussi récolté les quantités d'aliments ingérées par chacune des femmes enceintes (de Gavelle *et al.*, 2016). Concernant cette même cohorte, les concentrations de 111 pesticides et 29 métabolites ont été mesurées dans les cheveux des femmes enceintes (Béranger *et al.*, 2018). Les résultats montrent que les pyréthrinoïdes sont retrouvés en quantité importante. En outre, les auteurs concluent que la comparaison avec d'autres études reste difficile en raison de la diversité des populations étudiées et des variations dues aux matrices biologiques utilisées et à la sensibilité des méthodes analytiques associées. L'approche par modélisation PBPK permettrait d'analyser et de comparer les niveaux d'un même composé dans différentes matrices. Le modèle de Beaudouin *et al.* (2010) est aussi constitué de compartiments et d'équations physiologiques pour représenter la toxicocinétique des composés chimiques chez la femme enceinte. De plus les équations permettent aux organes et flux d'évoluer durant la grossesse. L'utilisation des valeurs de paramètres des quatre pyréthrinoïdes et des cinq métabolites de notre travail associée au modèle femme enceinte évolutif de Beaudouin *et al.* (2010), permettrait de construire un modèle PBPK global pour les femmes enceintes. Comme nous l'avons fait dans notre travail, l'estimation d'une dose journalière d'exposition aux quatre pyréthrinoïdes grâce aux données de consommation Elfe des femmes enceintes, associée à des données de contamination des aliments françaises, permettrait de

prédire les concentrations urinaires des cinq métabolites. Ces concentrations pourraient ensuite être comparées aux données de biosurveillance de cette cohorte.

Les enfants, en tant que sous-population à risque, suscitent un intérêt de plus en plus important dans les études de biosurveillance. Une méta-analyse récente a notamment montré qu'il y avait un risque de leucémie chez les enfants et les adolescents exposés aux pyréthrinoïdes (Van Maele-Fabry *et al.*, 2019). Les niveaux d'exposition des enfants en Allemagne (Becker *et al.*, 2006), aux États-Unis (Lu *et al.*, 2009; Morgan *et al.*, 2007; Trunnelle *et al.*, 2014) et au Canada (Fortin *et al.*, 2008) sont plus élevés que celui de la population adulte. Néanmoins, une étude française réalisée sur une population de 245 enfants bretons de 6 ans, montre que l'exposition des enfants semble inférieure à celle des adultes de l'étude ENNS (Glorennec *et al.*, 2017). Les résultats montrent aussi que cette population d'enfants semble plus faiblement exposée pyréthrinoïdes que dans les autres pays (Becker *et al.*, 2006; Fortin *et al.*, 2008; Lu *et al.*, 2009; Morgan *et al.*, 2007; Trunnelle *et al.*, 2014). Néanmoins, le niveau de concentration urinaire de DBCA retrouvé dans cette étude (médiane à 0.2 µg/L) est toujours supérieur aux niveaux des autres études et suggère une plus forte exposition à la deltaméthrine (Glorennec *et al.*, 2017). De plus, les métabolites urinaires n'ayant pas été déconjugués avant l'analyse, une sous-estimation des concentrations est probable (Glorennec *et al.*, 2017).

Le modèle de Beaudouin *et al.* (2010) prend déjà en compte l'évolution de la physiologie de 0 à 80 ans. Les prédictions du poids corporel, du volume des tissus adipeux et du débit cardiaque ont été évaluées avec des données humaines et ces prédictions sont correctes. De plus, plusieurs études de toxicocinétique chez le rat et de métabolisme *in vitro* sont disponibles afin de paramétrer le modèle pour les pyréthrinoïdes (Amaraneni *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2010; Mortuza *et al.*, 2018; Nallani *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2019). Amaraneni *et al.* (2017) ont estimé des coefficients de partage entre les tissus (cerveau, foie, muscle et tissus adipeux) et le sang chez le rat âgé de 15 et 21 jours pour la *cis*- et la *trans*-perméthrine. En premier lieu, les résultats montrent que les coefficients de partage tissu : sang sont généralement inversement proportionnels à l'âge des rats étudiés et que les concentrations de *cis*-perméthrine dans les tissus étaient généralement plus élevées que les concentrations de *trans*-perméthrine, malgré l'administration de doses plus élevées de *trans*-perméthrine. Chez les rats plus jeunes (âgés de 7 semaines), les concentrations plasmatiques maximales sont apparues après 7 heures, contre 14 heures chez les rats plus âgés. Cependant, des taux plasmatiques plus faibles ont été observés chez les rats plus jeunes que chez les rats plus âgés. Une étude réalisée avec de la deltaméthrine chez le rat âgé de 10 jours, confirme ces résultats (Kim *et al.*, 2010). Une étude récente où

différentes doses de deltaméthrine chez le rat âgé de 15, 20 jours et le rat adulte ont été testées, montre que les taux plasmatiques entre les rats juvéniles et les rats adultes ont progressivement diminué avec la diminution de la dose (Mortuza *et al.*, 2018). Mortuza *et al.* (2018) ont montré que les rats immatures ayant une capacité métabolique limitée de la deltaméthrine, peuvent inactiver et éliminer efficacement la deltaméthrine lorsque les expositions sont suffisamment faibles (à des doses environnementales). Grâce à l'évolution de la physiologie déjà implémentée dans le modèle PBPK global pour les pyréthrinoïdes développé dans notre étude et aux données récentes de toxicocinétique chez le rat immature, un modèle PBPK global pour les enfants est réalisable. Tornero-Velez *et al.* (2010) ont utilisé la structure du modèle PBPK pour la deltaméthrine chez le rat adulte (Mirfazaelian *et al.*, 2006) et des valeurs de poids des organes et de clairance spécifiques aux rats immatures pour prédire des concentrations dans le plasma, le cerveau et les tissus adipeux. Song et al (2019) ont effectué le même travail pour la deltaméthrine et la *cis*- et *trans*-perméthrine. Ils ont utilisé des données *in vitro* pour le métabolisme et ont comparé les prédictions entre les rats adultes et les rats immatures. La paramétrisation de ces modèles pourrait directement être intégrée dans un modèle PBPK global chez l'enfant.

Introduction d'autres molécules et métabolites d'intérêt dans le modèle PBPK global

L'outil développé dans le cadre de nos travaux avait pour objectif de fournir un cadre commun à l'ensemble des pyréthrinoïdes. Nous avons montré qu'il était possible de l'adapter à quatre pyréthrinoïdes ; la perméthrine, la cyperméthrine, la cyfluthrine et la deltaméthrine. L'évolution des pratiques, des réglementations et le développement de nouvelles molécules par l'industrie des produits phytosanitaires devraient nous pousser à introduire d'autres composés parents et d'autres métabolites dans le modèle PBPK global. D'après la Banque nationale des ventes pour les distributeurs, la cyperméthrine et la deltaméthrine font partie des cinq composés pyréthrinoïdes les plus vendus en France entre 2012 et 2017. Par contre, les ventes de cyfluthrine sont passées de 6 000 kg à 4 kg entre 2014 et 2017 et la perméthrine n'est plus autorisée en usage agricole en Europe depuis 2011. A titre d'exemple, la lambda-cyhalothrine est la troisième substance la plus vendue en France en 2017. Ce composé a un métabolite spécifique, l'acide *cis* 3-(2-chloro-3, 3,3-trifluoroprop-1-en-1-yl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylique (CFMP) mais aussi un métabolite commun, le 3-PBA. Bien qu'il n'existe actuellement pas de modèle PBPK pour cette substance, il semblerait assez facile d'en élaborer un. Dans un premier temps, Anadón *et al.* (2006) ont étudié la toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine chez le rat après exposition orale et intraveineuse. Des paramètres toxicocinétiques

ont été calculés dans le sang ainsi que dans plusieurs organes. Les auteurs rapportent des demi-vies d'élimination moyennes du composé parent dans le plasma de l'ordre de 7,55 heures et 10,27 heures suite à l'exposition par voie intraveineuse et par orale, respectivement (Anadón *et al.*, 2006). Ces résultats montrent que la toxicocinétique de la lambda-cyhalothrine est similaire à celle des autres pyréthrinoïdes intégrés dans notre étude. Knaak *et al.* (2012) ont calculé des coefficients de partage (tissus adipeux, cerveau, reins, foie, peau, organes lentement et rapidement perfusés) et des clairances métaboliques pour le rat et l'humain pour ce composé à l'aide de modèles QSAR. Enfin, Scollon *et al.* (2009) ont estimé la clairance intrinsèque de la lambda-cyhalothrine chez l'humain et le rat à partir de microsomes hépatiques. Grâce à ces études, il est possible de paramétrer le modèle pour le composé parent pour l'humain. Concernant la paramétrisation de compartiment métabolite pour le 3-PBA et le CFMP, trois études d'exposition volontaire chez les humains sont disponibles. Deux études suite à exposition par voie orale (Chester *et al.*, 1992; Khemiri *et al.*, 2017) et une étude suite à une exposition cutanée (Khemiri *et al.*, 2018). Les métabolites urinaires de la lambda-cyhalothrine (3-PBA, CFMP ou métabolites totaux) ont été mesurés à plusieurs temps suite à l'exposition. Ces études permettront à la fois de paramétrer le modèle de métabolite (fraction de métabolites formée et taux d'excrétion urinaire) mais aussi d'évaluer les prédictions du modèle comme nous l'avons fait pour les autres composés de notre étude. L'ajout de la lambda-cyhalothrine dans notre modèle PBPK global permettra à la fois d'apporter sa part contributive à la concentration urinaire de 3-PBA, mais aussi d'estimer la concentration urinaire de son métabolite spécifique, le CFMP. Malgré l'utilisation de plus en plus importante de lambda-cyhalothrine en France et dans le Monde, le CFMP n'a encore jamais été quantifié dans les urines des populations. Enfin, l'acide 4-hydroxy-3-phénoxybenzoïque (4'-OH-PBA) est aussi un métabolite commun de la lambda-cyhalothrine, la cyperméthrine, la perméthrine et la cyfluthrine. L'inclusion d'un compartiment pour ce métabolite serait donc intéressante. Par ailleurs, l'étude de Woollen *et al.* (1992) d'exposition par voie cutanée et orale à la cyperméthrine et la quantification du 4'-OH-PBA dans les urines permettraient la paramétrisation et l'évaluation du métabolite. Il semblerait donc intéressant de quantifier ces métabolites dans les futures études de biosurveillance.

Références

- Abraham, M.H., 1993. Application of solvation equations to chemical and biochemical processes. *Pure and Applied Chemistry* 65, 2503–2512.
- Air PACA, 2012. Observatoire des Résidus de Pesticides en PACA Marseille, France: Association Agréée de Surveillance de la Qualité de l’Air, Fédération ATMO.
- Amaraneni, M., Pang, J., Bruckner, J.V., Muralidhara, S., Mortuza, T.B., Gullick, D., Hooshfar, S., White, C.A., Cummings, B.S., 2017. Influence of Maturation on In Vivo Tissue to Plasma Partition Coefficients for Cis- and Trans-Permethrin. *J Pharm Sci* 106, 2144–2151.
- Anadón, A., Martínez, M., Martínez, M.A., Díaz, M.J., Martínez-Larrañaga, M.R., 2006. Toxicokinetics of lambda-cyhalothrin in rats. *Toxicol. Lett.* 165, 47–56.
- Anadón, A., Martinez-Larrañaga, M.R., Diaz, M.J., Bringas, P., 1991. Toxicokinetics of permethrin in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 110, 1–8.
- Anadón, A., Martinez-Larrañaga, M.R., Fernandez-Cruz, M.L., Diaz, M.J., Fernandez, M.C., Martinez, M.A., 1996. Toxicokinetics of deltamethrin and its 4’-HO-metabolite in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 141, 8–16.
- Andersen, M.E., 1991. Physiological modelling of organic compounds. *Ann Occup Hyg* 35, 309–321.
- Angerer, J., Aylward, L.L., Hays, S.M., Heinzow, B., Wilhelm, M., 2011. Human biomonitoring assessment values: Approaches and data requirements. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 214, 348–360.
- ANSES, 2011. Étude de l’alimentation totale française 2 (EAT 2): Tome 2. Résidus de pesticides, additifs, acrylamide, hydrocarbures aromatiques polycycliques.
- Apra, C., Stridori, A., Sciarra, G., 1997. Analytical method for the determination of urinary 3-phenoxybenzoic acid in subjects occupationally exposed to pyrethroid insecticides. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 695, 227–236.
- ATSDR, 2003. Toxicological Profile: Pyrethrins and Pyrethroids. US Department of health and human services.

Aylward, L.L., Brunet, R.C., Starr, T.B., Carrier, G., Delzell, E., Cheng, H., Beall, C., 2005. Exposure reconstruction for the TCDD-exposed NIOSH cohort using a concentration- and age-dependent model of elimination. *Risk Anal.* 25, 945–956.

Aylward, L.L., Hays, S.M., Zidek, A., 2017. Variation in urinary spot sample, 24 h samples, and longer-term average urinary concentrations of short-lived environmental chemicals: implications for exposure assessment and reverse dosimetry. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 27, 582–590.

Aylward, L.L., Irwin, K., St-Amand, A., Nong, A., Hays, S.M., 2018. Screening-level Biomonitoring Equivalents for tiered interpretation of urinary 3-phenoxybenzoic acid(3-PBA) in a risk assessment context. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 92, 29–38.

Aylward, L.L., Krishnan, K., Kirman, C.R., Nong, A., Hays, S.M., 2011. Biomonitoring equivalents for deltamethrin. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 60, 189–199.

Baláž, Š., Lukáčová, V., 1999. A Model-based Dependence of the Human Tissue/Blood Partition Coefficients of Chemicals on Lipophilicity and Tissue Composition. *Quantitative Structure-Activity Relationships* 18, 361–368.

Barr, D.B., Olsson, A.O., Wong, L.-Y., Udunka, S., Baker, S.E., Whitehead, R.D., Magsumbol, M.S., Williams, B.L., Needham, L.L., 2010. Urinary concentrations of metabolites of pyrethroid insecticides in the general U.S. population: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Environ. Health Perspect.* 118, 742–748.

Beaudouin, R., Micallef, S., Brochot, C., 2010. A stochastic whole-body physiologically based pharmacokinetic model to assess the impact of inter-individual variability on tissue dosimetry over the human lifespan. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 57, 103–116.

Becker, K., Seiwert, M., Angerer, J., Kolossa-Gehring, M., Hoppe, H.W., Ball, M., Schulz, C., Thumulla, J., Seifert, B., 2006. GerES IV pilot study: assessment of the exposure of German children to organophosphorus and pyrethroid pesticides. *Int J Hyg Environ Health* 209, 221–233.

Béranger, R., Hardy, E.M., Dexet, C., Guldner, L., Zaros, C., Nougadère, A., Metten, M.-A., Chevrier, C., Appenzeller, B.M.R., 2018. Multiple pesticide analysis in hair samples of pregnant French women: Results from the ELFE national birth cohort. *Environ Int* 120, 43–53.

Berger-preieß, E., Preieß, A., Sielaff, K., Raabe, M., Ilgen, B., Levsen, K., 1997. The Behaviour of Pyrethroids Indoors: A Model Study. *Indoor Air* 7, 248–262.

Berton, T., Mayhoub, F., Chardon, K., Duca, R.-C., Lestremau, F., Bach, V., Tack, K., 2014. Development of an analytical strategy based on LC-MS/MS for the measurement of different classes of pesticides and theirs metabolites in meconium: application and characterisation of foetal exposure in France. *Environ. Res.* 132, 311–320.

Blanchard, O., Glorennec, P., Mercier, F., Bonvallot, N., Chevrier, C., Ramalho, O., Mandin, C., Bot, B.L., 2014. Semivolatile organic compounds in indoor air and settled dust in 30 French dwellings. *Environ. Sci. Technol.* 48, 3959–3969.

Bonvallot, N., Bodin, L., Duboudin, C., Bard, D., 2009. Benchmark dose : définitions, intérêt et usages en évaluation des risques sanitaires. *John Libbey Eurotext - Environnement, Risques & Santé* - 529–37.

Bouchard, M., Carrier, G., Brunet, R.C., Bonvalot, Y., Gosselin, N.H., 2005. Determination of biological reference values for chlorpyrifos metabolites in human urine using a toxicokinetic approach. *J Occup Environ Hyg* 2, 155–168.

Bradberry, S.M., Cage, S.A., Proudfoot, A.T., Vale, J.A., 2005. Poisoning due to pyrethroids. *Toxicol Rev* 24, 93–106.

Bradman, A., Quirós-Alcalá, L., Castorina, R., Schall, R.A., Camacho, J., Holland, N.T., Barr, D.B., Eskenazi, B., 2015. Effect of Organic Diet Intervention on Pesticide Exposures in Young Children Living in Low-Income Urban and Agricultural Communities. *Environ Health Perspect* 123, 1086–1093.

Bragança, I., Lemos, P.C., Delerue-Matos, C., Domingues, V.F., 2019. Pyrethroid pesticide metabolite, 3-PBA, in soils: method development and application to real agricultural soils. *Environ Sci Pollut Res Int* 26, 2987–2997.

Briggs, A.H., Weinstein, M.C., Fenwick, E.A.L., Karnon, J., Sculpher, M.J., Paltiel, A.D., ISPOR-SMDM Modeling Good Research Practices Task Force, 2012. Model parameter estimation and uncertainty analysis: a report of the ISPOR-SMDM Modeling Good Research Practices Task Force Working Group-6. *Med Decis Making* 32, 722–732.

- Brown, H.S., Chadwick, A., Houston, J.B., 2007. Use of isolated hepatocyte preparations for cytochrome P450 inhibition studies: comparison with microsomes for K_i determination. *Drug Metab. Dispos.* 35, 2119–2126.
- Brown, R.P., Delp, M.D., Lindstedt, S.L., Rhomberg, L.R., Beliles, R.P., 1997. Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicol Ind Health* 13, 407–484.
- Calafat, A.M., 2016. Contemporary Issues in Exposure Assessment Using Biomonitoring. *Current Epidemiology Reports* 3, 145–153.
- Campolongo, F., Saltelli, A., 1997. Sensitivity analysis of an environmental model: an application of different analysis methods. *Reliability Engineering & System Safety, The Role of Sensitivity Analysis in the Corroboration of Models and its Links to Model Structural and Parametric Uncertainty* 57, 49–69.
- Cariboni, J., Gatelli, D., Liska, R., Saltelli, A., 2007. The role of sensitivity analysis in ecological modelling. *Ecological Modelling, Special Issue on Ecological Informatics: Biologically-Inspired Machine Learning* 203, 167–182.
- Casida, J.E., 1980. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environ Health Perspect* 34, 189–202.
- Casida, J.E., Gammon, D.W., Glickman, A.H., Lawrence, L.J., 1983. Mechanisms of selective action of pyrethroid insecticides. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23, 413–438.
- Chen, J.-F., Chen, H.-Y., Liu, R., He, J., Song, L., Bian, Q., Xu, L.-C., Zhou, J.-W., Xiao, H., Dai, G.-D., Wang, X.-R., 2005. Effects of fenvalerate on steroidogenesis in cultured rat granulosa cells. *Biomed. Environ. Sci.* 18, 108–116.
- Chen, S.Y., Zhang, Z.W., He, F.S., Yao, P.P., Wu, Y.Q., Sun, J.X., Liu, L.H., Li, Q.G., 1991. An epidemiological study on occupational acute pyrethroid poisoning in cotton farmers. *Br J Ind Med* 48, 77–81.
- Chester, G., Sabapathy, N.N., Woollen, B.H., 1992. Exposure and health assessment during application of lambda-cyhalothrin for malaria vector control in Pakistan. *Bull. World Health Organ.* 70, 615–619.

- Chiu, W.A., Barton, H.A., DeWoskin, R.S., Schlosser, P., Thompson, C.M., Sonawane, B., Lipscomb, J.C., Krishnan, K., 2007. Evaluation of physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment. *J Appl Toxicol* 27, 218–237.
- Choi, J., Mørck, T.A., Polcher, A., Knudsen, L.E., Joas, A., 2015. Review of the state of the art of human biomonitoring for chemical substances and its application to human exposure assessment for food safety. *EFSA Supporting Publications* 12, 724E.
- Clewell, H.J., Gentry, P.R., Covington, T.R., Sarangapani, R., Teeguarden, J.G., 2004. Evaluation of the potential impact of age- and gender-specific pharmacokinetic differences on tissue dosimetry. *Toxicol. Sci.* 79, 381–393.
- Clewell, H.J., Tan, Y.M., Campbell, J.L., Andersen, M.E., 2008. Quantitative interpretation of human biomonitoring data. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 231, 122–133.
- Clewell, R.A., Clewell, H.J., 2008. Development and specification of physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 50, 129–143.
- Cole, L., Ruzo, L., Wood, E., Casida, J., 1982. Pyrethroid Metabolism: Comparative Fate in Rats of tralomethrin, Tralocythrin, Deltamethrin, and (1R, α S)-cis-Cypermethrin. *Agric Food Chem* 30(4):631-636.
- Commission Européenne, 1994. Règlement (CE) n° 1488/94 de la Commission, du 28 juin 1994, établissant les principes d'évaluation des risques pour l'homme et pour l'environnement présentés par les substances existantes conformément au règlement (CEE) n° 793/93.
- Confalonieri, R., Bellocchi, G., Bregaglio, S., Donatelli, M., Acutis, M., 2010. Comparison of sensitivity analysis techniques: A case study with the rice model WARM. *Ecological Modelling* 221, 1897–1906.
- Corley, R.A., Gordon, S.M., Wallace, L.A., 2000. Physiologically based pharmacokinetic modeling of the temperature-dependent dermal absorption of chloroform by humans following bath water exposures. *Toxicol. Sci.* 53, 13–23.
- Corrion, M.L., Ostrea, J.E., Bielawski, D.M., Posecion, J.N., Seagraves, J.J., 2005. Detection of prenatal exposure to several classes of environmental toxicants and their metabolites by gas chromatography-mass spectrometry in maternal and umbilical cord blood. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 822, 221–229.

Côté, J., Bonvalot, Y., Carrier, G., Lapointe, C., Fuhr, U., Tomalik-Scharte, D., Wachall, B., Bouchard, M., 2014. A Novel Toxicokinetic Modeling of Cypermethrin and Permethrin and Their Metabolites in Humans for Dose Reconstruction from Biomarker Data. *PLOS ONE* 9, e88517.

Côté, J., Bouchard, M., 2017. Dose reconstruction in workers exposed to two major pyrethroid pesticides and determination of biological reference values using a toxicokinetic model. *J Expo Sci Environ Epidemiol*.

Crow, J.A., Borazjani, A., Potter, P.M., Ross, M.K., 2007. Hydrolysis of pyrethroids by human and rat tissues: examination of intestinal, liver and serum carboxylesterases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 221, 1–12.

Csanády, G.A., Kreuzer, P.E., Baur, C., Filser, J.G., 1996. A physiological toxicokinetic model for 1,3-butadiene in rodents and man: blood concentrations of 1,3-butadiene, its metabolically formed epoxides, and of haemoglobin adducts--relevance of glutathione depletion. *Toxicology* 113, 300–305.

Darney, K., Bodin, L., Bouchard, M., Côté, J., Volatier, J.-L., Desvignes, V., 2018. Aggregate exposure of the adult French population to pyrethroids. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 351, 21–31.

de Gavelle, E., de Lauzon-Guillain, B., Charles, M.-A., Chevrier, C., Hulin, M., Sirot, V., Merlo, M., Nougadère, A., 2016. Chronic dietary exposure to pesticide residues and associated risk in the French ELFE cohort of pregnant women. *Environ Int* 92–93, 533–542.

DeJongh, J., Verhaar, H.J., Hermens, J.L., 1997. A quantitative property-property relationship (QPPR) approach to estimate in vitro tissue-blood partition coefficients of organic chemicals in rats and humans. *Arch. Toxicol.* 72, 17–25.

Dereumeaux, C., Saoudi, A., Gorla, S., Wagner, V., De Crouy-Chanel, P., Pecheux, M., Berat, B., Zaros, C., Guldner, L., 2018. Urinary levels of pyrethroid pesticides and determinants in pregnant French women from the Elfe cohort. *Environ Int* 119, 89–99.

DGCCRF, 2008. Rapport 2006 sur les plans de surveillance et de contrôles des résidus de pesticides dans les denrées d'origine végétale, Note d'information n°2008-101. Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes., Paris.

- Droz, P.O., Berode, M., Jang, J.Y., 1999. Biological monitoring of tetrahydrofuran: contribution of a physiologically based pharmacokinetic model. *Am Ind Hyg AssocJ* 60, 243–248.
- Eadsforth, C.V., Baldwin, M.K., 1983. Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide, cypermethrin. *Xenobiotica* 13, 67–72.
- Eadsforth, C.V., Bragt, P.C., van Sittert, N.J., 1988. Human dose-excretion studies with pyrethroid insecticides cypermethrin and alphacypermethrin: relevance for biological monitoring. *Xenobiotica* 18, 603–614.
- Edginton, A.N., Schmitt, W., Willmann, S., 2006. Development and evaluation of a generic physiologically based pharmacokinetic model for children. *Clin Pharmacokinet* 45, 1013–1034.
- EFSA, 2012. Guidance on the Use of Probabilistic Methodology for Modelling Dietary Exposure to Pesticide Residues. *EFSA Journal* 10, 2839.
- Egerer, E., Roßbach, B., Muttray, A., Schneider, M., Letzel, S., 2004. Biomonitoring of pyrethroid metabolites in environmental medicine.
- Elbetieha, A., Da’as, S.I., Khamas, W., Darmani, H., 2001. Evaluation of the toxic potentials of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 41, 522–528.
- Fennell, T.R., Sumner, S.C., Walker, V.E., 1992. A model for the formation and removal of hemoglobin adducts. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1, 213–219.
- Fiedler, N., Rohitrattana, J., Siri Wong, W., Suttiwan, P., Ohman Strickland, P., Ryan, P.B., Rohlman, D.S., Panuwet, P., Barr, D.B., Robson, M.G., 2015. Neurobehavioral effects of exposure to organophosphates and pyrethroid pesticides among Thai children. *Neurotoxicology* 48, 90–99.
- Fortin, M.-C., Bouchard, M., Carrier, G., Dumas, P., 2008. Biological monitoring of exposure to pyrethrins and pyrethroids in a metropolitan population of the Province of Quebec, Canada. *Environmental Research* 107, 343–350.
- Fréry, N., Guldner, L., Saoudi, A., Garnier, R., Zeghnoun, A., Bidondo, M.L., 2011. Exposition de la population française aux substances chimiques de l’environnement - Tome 2 - Polychlorobiphényles (PCB-NDL) et Pesticides. Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice.

Galliani, G., Rindone, B., Dagnino, G., Salmona, M., 1984. Structure reactivity relationships in the microsomal oxidation of tertiary amines. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 9, 289–293.

Gaughan, L.C., Unai, T., Casida, J.E., 1977. Permethrin metabolism in rats. - *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (ACS Publications).

Gelman, A., Carlin, J.B., Stern, H.S., Dunson, D.B., Vehtari, A., Rubin, D.B., 2014. *Bayesian Data Analysis*, Third Edition 656.

Gentry, P.R., Van Landingham, C., Fuller, W.G., Sulsky, S.I., Greene, T.B., Clewell, H.J., Andersen, M.E., Roels, H.A., Taylor, M.D., Keene, A.M., 2017. A tissue dose-based comparative exposure assessment of manganese using physiologically based pharmacokinetic modeling-The importance of homeostatic control for an essential metal. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 322, 27–40.

Georgopoulos, P., Roy, A., Gallo, M.A., 1994. Reconstruction of short-term multi-route exposure to volatile organic compounds using physiologically based pharmacokinetic models. *Journal of exposure science & environmental epidemiology* 4, 309–328.

Glorennec, P., Serrano, T., Fravallo, M., Warembourg, C., Monfort, C., Cordier, S., Viel, J.-F., Le Gléau, F., Le Bot, B., Chevrier, C., 2017. Determinants of children's exposure to pyrethroid insecticides in western France. *Environ Int* 104, 76–82.

Go, V., Garey, J., Wolff, M.S., Pogo, B.G., 1999. Estrogenic potential of certain pyrethroid compounds in the MCF-7 human breast carcinoma cell line. *Environ Health Perspect* 107, 173–177.

Godin, S.J., DeVito, M.J., Hughes, M.F., Ross, D.G., Scollon, E.J., Starr, J.M., Setzer, R.W., Conolly, R.B., Tornero-Velez, R., 2010. Physiologically based pharmacokinetic modeling of deltamethrin: development of a rat and human diffusion-limited model. *Toxicol. Sci.* 115, 330–343.

Godin, S.J., Scollon, E.J., Hughes, M.F., Potter, P.M., DeVito, M.J., Ross, M.K., 2006. Species differences in the in vitro metabolism of deltamethrin and esfenvalerate: differential oxidative and hydrolytic metabolism by humans and rats. *Drug Metab. Dispos.* 34, 1764–1771.

- Gökalp, F., 2012. Genotoxic and Cytotoxic Evaluation of Pyrethroid Insecticides λ -Cyhalothrin and α -Cypermethrin on Human Blood Lymphocyte Culture. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 90.
- Gotoh, Y., Kawakami, M., Matsumoto, N., Okada, Y., 1998. Permethrin emulsion ingestion: clinical manifestations and clearance of isomers. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 36, 57–61.
- Grech, A., Tebby, C., Brochot, C., Bois, F.Y., Bado-Nilles, A., Dorne, J.-L., Quignot, N., Beaudouin, R., 2019. Generic physiologically-based toxicokinetic modelling for fish: Integration of environmental factors and species variability. *Sci. Total Environ.* 651, 516–531.
- Haddad, S., Restieri, C., Krishnan, K., 2001. Characterization of age-related changes in body weight and organ weights from birth to adolescence in humans. *J. Toxicol. Environ. Health Part A* 64, 453–464.
- Hallifax, D., Rawden, H.C., Hakooz, N., Houston, J.B., 2005. Prediction of metabolic clearance using cryopreserved human hepatocytes: kinetic characteristics for five benzodiazepines. *Drug Metab. Dispos.* 33, 1852–1858.
- Hammonds, J.S., Hoffman, O., Bartell, S., 1994. *An Introductory Guide to Uncertainty Analysis in Environmental and Health Risk Assessment.*
- Han, Y., Xia, Y., Han, J., Zhou, J., Wang, S., Zhu, P., Zhao, R., Jin, N., Song, L., Wang, X., 2008. The relationship of 3-PBA pyrethroids metabolite and male reproductive hormones among non-occupational exposure males. *Chemosphere* 72, 785–790.
- Hastings, W.K., 1970. Monte Carlo Sampling Methods Using Markov Chains and Their Applications. *Biometrika* 57, 97–109.
- Hays, S.M., Aylward, L.L., Gagné, M., Krishnan, K., 2009. Derivation of Biomonitoring Equivalents for cyfluthrin. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 55, 268–275.
- Hays, S.M., Becker, R.A., Leung, H.W., Aylward, L.L., Pyatt, D.W., 2007. Biomonitoring equivalents: A screening approach for interpreting biomonitoring results from a public health risk perspective. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 47, 96–109.
- Hermant, M., Blanchard, O., Perouel, G., Boulanger, G., Merlo, M., Desvignes, V., 2018. Environmental Exposure of the Adult French Population to Permethrin. *Risk Anal.* 38, 853–865.

- Hughes, M.F., Edwards, B.C., 2010. In vitro dermal absorption of pyrethroid pesticides in human and rat skin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 246, 29–37.
- Hutson, D.H., 1979. The metabolic fate of synthetic pyrethroid insecticides in mammals. *Progress in Drug Metabolism*.
- Hwang, H.-M., Park, E.-K., Young, T.M., Hammock, B.D., 2008. Occurrence of endocrine-disrupting chemicals in indoor dust. *Sci. Total Environ.* 404, 26–35.
- INSERM, 2013. Pesticides : Effets sur la santé. Expertise collective.
- INSPQ, 2014. Réflexions sur l'élaboration d'une stratégie de biosurveillance en appui aux actions de santé publique au Québec.
- Iyengar, S.S., Rao, M.S., 1983. Statistical techniques in modeling of complex systems: Single and multiresponse models. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics SMC-13*, 175–189.
- J. Paustenbach, D., 2000. The practice of exposure assessment: A state-of-the-art review. *Journal of toxicology and environmental health. Part B, Critical reviews* 3, 179–291.
- Julien, R., Adamkiewicz, G., Levy, J.I., Bennett, D., Nishioka, M., Spengler, J.D., 2008. Pesticide loadings of select organophosphate and pyrethroid pesticides in urban public housing. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 18, 167–174.
- Juraske, R., Mutel, C.L., Stoessel, F., Hellweg, S., 2009. Life cycle human toxicity assessment of pesticides: comparing fruit and vegetable diets in Switzerland and the United States. *Chemosphere* 77, 939–945.
- Khan, S.U., Kacew, S., Akhtar, M.H., 1986. Bioavailability of bound ¹⁴C residues in rats from bean plants treated with ¹⁴C-deltamethrin. *Chemosphere* 15, 923–927.
- Khemiri, R., Côté, J., Fetoui, H., Bouchard, M., 2018. Kinetic time courses of lambda-cyhalothrin metabolites after dermal application of Matador EC 120 in volunteers. *Toxicol. Lett.* 296, 132–138.
- Khemiri, R., Côté, J., Fetoui, H., Bouchard, M., 2017. Documenting the kinetic time course of lambda-cyhalothrin metabolites in orally exposed volunteers for the interpretation of biomonitoring data. *Toxicol. Lett.* 276, 115–121.

- Kim, K.-B., Anand, S.S., Kim, H.J., White, C.A., Fisher, J.W., Tornero-Velez, R., Bruckner, J.V., 2010. Age, dose, and time-dependency of plasma and tissue distribution of deltamethrin in immature rats. *Toxicol. Sci.* 115, 354–368.
- Knaak, J.B., Dary, C.C., Power, F., Thompson, C.B., Blancato, J.N., 2004. Physicochemical and biological data for the development of predictive organophosphorus pesticide QSARs and PBPK/PD models for human risk assessment. *Crit. Rev. Toxicol.* 34, 143–207.
- Knaak, J.B., Dary, C.C., Zhang, X., Gerlach, R.W., Tornero-Velez, R., Chang, D.T., Goldsmith, R., Blancato, J.N., 2012. Parameters for pyrethroid insecticide QSAR and PBPK/PD models for human risk assessment. *Rev Environ Contam Toxicol* 219, 1–114.
- Kolaczinski, J.H., Curtis, C.F., 2004. Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroid insecticides: a review of the debate. *Food Chem. Toxicol.* 42, 697–706.
- Koureas, M., Tsakalof, A., Tsatsakis, A., Hadjichristodoulou, C., 2012. Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. *Toxicol. Lett.* 210, 155–168.
- Krishnan, K., Gargas, M.L., Fennell, T.R., Andersen, M.E., 1992. A physiologically based description of ethylene oxide dosimetry in the rat. *Toxicol Ind Health* 8, 121–140.
- Kühn, K.-H., Wieseler, B., Leng, G., Idel, H., 1999. Toxicokinetics of Pyrethroids in Humans: Consequences for Biological Monitoring. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 62, 101–108.
- Kumagai, S., Matsunaga, I., 1995. Physiologically based pharmacokinetic model for acetone. *Occup Environ Med* 52, 344–352. <https://doi.org/10.1136/oem.52.5.344>
- Lawrence, L.J., Casida, J.E., 1982. Pyrethroid toxicology: Mouse intracerebral structure-toxicity relationships. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 18, 9–14.
- LCSQA, 2009. Observation des niveaux de concentration en pesticides dans l'air ambiant.
- Leng, G., Berger-Preiss, E., Levsen, K., Ranft, U., Sugiri, D., Hadnagy, W., Idel, H., 2005. Pyrethroids used indoor-ambient monitoring of pyrethroids following a pest control operation. *Int J Hyg Environ Health* 208, 193–199.
- Leng, G., Kühn, K.H., Idel, H., 1997a. Biological monitoring of pyrethroids in blood and pyrethroid metabolites in urine: applications and limitations. *Sci. Total Environ.* 199, 173–181.

- Leng, G., Kühn, K.H., Wieseler, B., Idel, H., 1999. Metabolism of (S)-bioallethrin and related compounds in humans. *Toxicol. Lett.* 107, 109–121.
- Leng, G., Leng, A., Kühn, K.H., Lewalter, J., Pauluhn, J., 1997b. Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide cyfluthrin: urinary metabolite profile following inhalation. *Xenobiotica* 27, 1273–1283.
- Leng, G., Lewalter, J., 1999. Role of individual susceptibility in risk assessment of pesticides. *Occup Environ Med* 56, 449–453.
- Leung, H.W., 1992. Use of physiologically based pharmacokinetic models to establish biological exposure indexes. *Am Ind Hyg Assoc J* 53, 369–374.
- Li, H., Ma, H., Lydy, M.J., You, J., 2014. Occurrence, seasonal variation and inhalation exposure of atmospheric organophosphate and pyrethroid pesticides in an urban community in South China. *Chemosphere* 95, 363–369.
- Li, Z., Nie, J., Lu, Z., Xie, H., Kang, L., Chen, Q., Li, A., Zhao, X., Xu, G., Yan, Z., 2016. Cumulative risk assessment of the exposure to pyrethroids through fruits consumption in China - Based on a 3-year investigation. *Food Chem. Toxicol.* 96, 234–243.
- Lipscomb, J.C., Poet, T.S., 2008. In vitro measurements of metabolism for application in pharmacokinetic modeling. *Pharmacol. Ther.* 118, 82–103.
- Lorber, M., 2002. A pharmacokinetic model for estimating exposure of Americans to dioxin-like compounds in the past, present, and future. *Sci. Total Environ.* 288, 81–95.
- Lu, C., Barr, D.B., Pearson, M.A., Walker, L.A., Bravo, R., 2009. The attribution of urban and suburban children's exposure to synthetic pyrethroid insecticides: a longitudinal assessment. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 19, 69–78.
- Lu, C., Li, P., Gallegos, R., Uttamsingh, V., Xia, C.Q., Miwa, G.T., Balani, S.K., Gan, L.-S., 2006. Comparison of intrinsic clearance in liver microsomes and hepatocytes from rats and humans: evaluation of free fraction and uptake in hepatocytes. *Drug Metab. Dispos.* 34, 1600–1605.
- Mandin, C., Mercier, F., Ramalho, O., Lucas, J.-P., Gilles, E., Blanchard, O., Bonvallot, N., Glorennec, P., Le Bot, B., 2016. Semi-volatile organic compounds in the particulate phase in dwellings: A nationwide survey in France. *Atmospheric Environment* 136, 82–94.

Marcus, A.H., Elias, R.W., 1998. Some useful statistical methods for model validation. *Environ Health Perspect* 106, 1541–1550.

Matsuo, N., Mori, T., 2012. *Pyrethroids: From Chrysanthemum to Modern Industrial Insecticide*, Topics in Current Chemistry. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Meeker, J.D., Barr, D.B., 2009. Pyrethroid insecticide metabolites are associated with serum hormone levels in adult men. *Reprod Toxicol* 27, 155–160.

Meeker, J.D., Barr, D.B., 2008. Human semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary metabolites of pyrethroid insecticides. *Hum Reprod* 23, 1932–1940.

Melnyk, L.J., Xue, J., Brown, G.G., McCombs, M., Nishioka, M., Michael, L.C., 2014. Dietary intakes of pesticides based on community duplicate diet samples. *Sci. Total Environ.* 468–469, 785–790.

Ministère Agriculture, 2015. *L'agriculture, la forêt et les industries agroalimentaires. Données de cadrage.*

Mirfazaelian, A., Kim, K.-B., Anand, S.S., Kim, H.J., Tornero-Velez, R., Bruckner, J.V., Fisher, J.W., 2006. Development of a physiologically based pharmacokinetic model for deltamethrin in the adult male Sprague-Dawley rat. *Toxicol. Sci.* 93, 432–442.

Miyamoto, J., Sato, Y., Yamamoto, K., 1968. *Biochemical Studies on the Mode of Action of Pyrethroidal Insecticides: Part I. Metabolic Fate of Phthalothrin in Mammals. : Agricultural and Biological Chemistry: Vol 32, No 5.*

Morgan, M.K., MacMillan, D.K., Zehr, D., Sobus, J.R., 2018. Pyrethroid insecticides and their environmental degradates in repeated duplicate-diet solid food samples of 50 adults. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology* 28, 40–45.

Morgan, M.K., Sheldon, L.S., Croghan, C.W., Jones, P.A., Chuang, J.C., Wilson, N.K., 2007. An observational study of 127 preschool children at their homes and daycare centers in Ohio: Environmental pathways to cis- and trans-permethrin exposure. *Environmental Research* 104, 266–274.

Mortuza, T., Chen, C., White, C.A., Cummings, B.S., Muralidhara, S., Gullick, D., Bruckner, J.V., 2018. Toxicokinetics of Deltamethrin: Dosage Dependency, Vehicle Effects, and Low-Dose Age-Equivalent Dosimetry in Rats. *Toxicol. Sci.* 162, 327–336.

Nallani, G.C., Chandrasekaran, A., Kassahun, K., Shen, L., ElNaggar, S.F., Liu, Z., 2018. Age dependent in vitro metabolism of bifenthrin in rat and human hepatic microsomes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 338, 65–72.

Nascimento, M.M., Rocha, G.O. da, 2017. Pesticides in fine airborne particles: from a green analysis method to atmospheric characterization and risk assessment. *Scientific Reports* 7, 2267.

Needham, L.L., Calafat, A.M., Barr, D.B., 2007. Uses and issues of biomonitoring.

Nestorov, I., 2003. Whole body pharmacokinetic models. *Clin Pharmacokinet* 42, 883–908.

NRC, 1994. *Science and Judgment in Risk Assessment*. Washington, D.C.: National Academy Press.

NRC, 1983. *Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process*. Council National Research.

OMS, 2014. *Rapport sur la situation mondiale des maladies non transmissibles 2014*. Organisation Mondiale de la Santé, Genève.

OMS, 2005. *Safety of Pyrethroids for Public Health Use*; WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.10; Communicable Disease Control (CDC) - Prevention and Eradication World Health Organisation Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES) - Protection of the Human Environment Programme on Chemical Safety (PCS). Organisation Mondiale de la Santé, Genève.

OMS, 1990. *Public health impact of pesticides used in agriculture*. Organisation Mondiale de la Santé. Genève.

OMS, 1987. *Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food* (EHC 70, 1987). Organisation Mondiale de la Santé, Genève.

OMS/IPCS, 2010. *Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment*. Organisation Mondiale de la Santé, Genève.

OMS/IPCS, 2008. Part 1. *Guidance document on characterizing and communicating uncertainty in exposure assessment*. In: *Uncertainty and data quality in exposure assessment*. Organisation Mondiale de la Santé, Genève.

OMS/IPCS, 2004. IPCS risk assessment terminology. Organisation Mondiale de la Santé, Genève.

Oulhote, Y., Bouchard, M.F., 2013. Urinary Metabolites of Organophosphate and Pyrethroid Pesticides and Behavioral Problems in Canadian Children. *Environ Health Perspect.*

Papalexiou, P., Bitar, N., Stockis, A., 1984. Absorption of Radiocarbon Labelled Deltamethrin Given Orally in Healthy Volunteer. IPHIB-DT-CTV-50.22/84.10/A. Roussel- Uclaf.

Patil, S.R., Frey, H.C., 2004. Comparison of sensitivity analysis methods based on applications to a food safety risk assessment model. *Risk Anal.* 24, 573–585.

Perbellini, L., Mozzo, P., Olivato, D., Brugnone, F., 1990. “Dynamic” biological exposure indexes for n-hexane and 2,5-hexanedione, suggested by a physiologically based pharmacokinetic model. *Am Ind Hyg Assoc J* 51, 356–362.

Poulin, P., Krishnan, K., 1995. A biologically-based algorithm for predicting human tissue: blood partition coefficients of organic chemicals. *Hum Exp Toxicol* 14, 273–280.

Price, K., Haddad, S., Krishnan, K., 2003. Physiological modeling of age-specific changes in the pharmacokinetics of organic chemicals in children. *J. Toxicol. Environ. Health Part A* 66, 417–433.

Prüss-Ustün, A., Wolf, J., Corvalán, C., Neville, T., Bos, R., Neira, M., 2017. Diseases due to unhealthy environments: an updated estimate of the global burden of disease attributable to environmental determinants of health. *J Public Health (Oxf)* 39, 464–475.

Quijano, L., Yusà, V., Font, G., Pardo, O., 2016. Chronic cumulative risk assessment of the exposure to organophosphorus, carbamate and pyrethroid and pyrethrin pesticides through fruit and vegetables consumption in the region of Valencia (Spain). *Food Chem. Toxicol.* 89, 39–46.

Quiros-Alcala, L., Mehta, S., Eskenazi, B., 2014. Pyrethroid pesticide exposure and parental report of learning disability and attention-deficit hyperactivity disorder in U.S. children: NHANES 1999-2002.

Rao, H.V., Ginsberg, G.L., 1997. A physiologically-based pharmacokinetic model assessment of methyl t-butyl ether in groundwater for a bathing and showering determination. *Risk Anal.* 17, 583–598.

- Ratelle, M., Côté, J., Bouchard, M., 2015a. Toxicokinetics of permethrin biomarkers of exposure in orally exposed volunteers. *Toxicol. Lett.* 232, 369–375.
- Ratelle, M., Côté, J., Bouchard, M., 2015b. Time profiles and toxicokinetic parameters of key biomarkers of exposure to cypermethrin in orally exposed volunteers compared with previously available kinetic data following permethrin exposure. *J Appl Toxicol* 35, 1586–1593.
- Ray, D.E., Forshaw, P.J., 2000. Pyrethroid insecticides: poisoning syndromes, synergies, and therapy. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 38, 95–101.
- Reddy, M., Clewell III, H.J., Lave, T., E., M., 2013. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling: A Tool for Understanding ADMET Properties and Extrapolating to Human, in: Gowder, S. (Ed.), *New Insights into Toxicity and Drug Testing*. InTech.
- Rescigno, A., Beck, J.S., 1987. The use and abuse of models. *J Pharmacokinet Biopharm* 15, 327–344.
- Richou-Bac, L., Venant, A., 1985. Une nouvelle famille d'insecticides: les pyréthriinoïdes de synthèse. 199–212.
- Riederer, A.M., Bartell, S.M., Barr, D.B., Ryan, P.B., 2008. Diet and nondiet predictors of urinary 3-phenoxybenzoic acid in NHANES 1999-2002. *Environ. Health Perspect.* 116, 1015–1022.
- Rodríguez, J.-L., Ares, I., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M.-R., Anadón, A., Martínez, M.-A., 2018. Bioavailability and nervous tissue distribution of pyrethroid insecticide cyfluthrin in rats. *Food Chem. Toxicol.* 118, 220–226.
- Roy, A., Weisel, C.P., Liroy, P.J., Georgopoulos, P.G., 1996. A distributed parameter physiologically-based pharmacokinetic model for dermal and inhalation exposure to volatile organic compounds. *Risk Anal.* 16, 147–160.
- Ruzo, L.O., Unai, T., Casida, J.E., 1978. Decamethrin metabolism in rats. *J. Agric. Food Chem.* 26, 918–925.
- Saltelli, A., Chan, K., Scott, E.M., 2008. *Sensitivity Analysis.*, Editions Wiley-Blackwell Ed. ed.
- Sams, C., Jones, K., 2012. Biological monitoring for exposure to deltamethrin: a human oral dosing study and background levels in the UK general population. *Toxicol. Lett.* 213, 35–38.

Sams, C., Jones, K., 2011. Human volunteer studies investigating the potential for toxicokinetic interactions between the pesticides deltamethrin; pirimicarb and chlorpyrifos-methyl following oral exposure at the acceptable daily intake. *Toxicol. Lett.* 200, 41–45.

Sanders, H.J., Taff, A.W., 2002. Staff-industry collaborative report allethrin.

Santé Canada, 2010. Biosurveillance humaine des substances chimiques de l'environnement.

Schettgen, T., Heudorf, U., Drexler, H., Angerer, J., 2002. Pyrethroid exposure of the general population-is this due to diet. *Toxicol. Lett.* 134, 141–145.

Schulz, C., Angerer, J., Ewers, U., Kolossa-Gehring, M., 2007. The German Human Biomonitoring Commission. *Int J Hyg Environ Health* 210, 373–382.

Scollon, E.J., Starr, J.M., Godin, S.J., DeVito, M.J., Hughes, M.F., 2009. In vitro metabolism of pyrethroid pesticides by rat and human hepatic microsomes and cytochrome p450 isoforms. *Drug Metab. Dispos.* 37, 221–228.

Shafer, T.J., Meyer, D.A., Crofton, K.M., 2005. Developmental Neurotoxicity of Pyrethroid Insecticides: Critical Review and Future Research Needs. *Environ Health Perspect* 113, 123–136.

Shono, T., Ohsawa, K., Casida, J.E., 1979. Metabolism of trans- and cis-permethrin, trans- and cis-cypermethrin, and decamethrin by microsomal enzymes. *J. Agric. Food Chem.* 27, 316–325.

Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, L.S., Piccirillo, V.J., Sargent, D., Stevens, J.T., Weiner, M.L., 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology* 171, 3–59.

Sohn, M.D., McKone, T.E., Blancato, J.N., 2004. Reconstructing population exposures from dose biomarkers: inhalation of trichloroethylene (TCE) as a case study. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 14, 204–213.

Song, G., Moreau, M., Efremenko, A., Lake, B.G., Wu, H., Bruckner, J.V., White, C.A., Osimitz, T.G., Creek, M.R., Hinderliter, P.M., Clewell, H.J., Yoon, M., 2019. Evaluation of Age-Related Pyrethroid Pharmacokinetic Differences in Rats: Physiologically-Based Pharmacokinetic Model Development Using In Vitro Data and In Vitro to In Vivo Extrapolation. *Toxicol. Sci.* 169, 365–379.

Strikwold, M., Spenkeliink, B., Woutersen, R.A., Rietjens, I.M.C.M., Punt, A., 2017. Development of a Combined In Vitro Physiologically Based Kinetic (PBK) and Monte Carlo Modelling Approach to Predict Interindividual Human Variation in Phenol-Induced Developmental Toxicity. *Toxicol. Sci.* 157, 365–376.

Tan, Y.-M., Liao, K.H., Clewell, H.J., 2007. Reverse dosimetry: interpreting trihalomethanes biomonitoring data using physiologically based pharmacokinetic modeling. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 17, 591–603.

Thomas, R.S., Yang, R.S., Morgan, D.G., Moorman, M.P., Kermani, H.R., Sloane, R.A., O'Connor, R.W., Adkins, B., Gargas, M.L., Andersen, M.E., 1996. PBPK modeling/Monte Carlo simulation of methylene chloride kinetic changes in mice in relation to age and acute, subchronic, and chronic inhalation exposure. *Environ Health Perspect* 104, 858–865.

Timchalk, C., Poet, T.S., Lin, Y., Weitz, K.K., Zhao, R., Thrall, K.D., 2001. Development of an integrated microanalytical system for analysis of lead in saliva and linkage to a physiologically based pharmacokinetic model describing lead saliva secretion. *AIHAJ* 62, 295–302.

Tisch, M., Schmezer, P., Faulde, M., Groh, A., Maier, H., 2002. Genotoxicity studies on permethrin, DEET and diazinon in primary human nasal mucosal cells. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 259, 150–153.

Tomalik-Scharte, D., Lazar, A., Meins, J., Bastian, B., Ihrig, M., Wachall, B., Jetter, A., Tantcheva-Poór, I., Mahrle, G., Fuhr, U., 2005. Dermal absorption of permethrin following topical administration. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 61, 399–404.

Tomigahara, Y., Mori, M., Shiba, K., Isobe, N., Kaneko, H., Nakatsuka, I., Yamada, H., 1994. Metabolism of tetramethrin isomers in rat: II. Identification and quantitation of metabolites. *Xenobiotica* 24, 1205–1214.

Tomlin, C., 1997. The pesticide manual: a world compendium, 11th ed., British Crop Protection Council, London, 1606 pp.

Tornero-Velez, R., Davis, J., Scollon, E.J., Starr, J.M., Setzer, R.W., Goldsmith, M.-R., Chang, D.T., Xue, J., Zartarian, V., DeVito, M.J., Hughes, M.F., 2012. A pharmacokinetic model of cis- and trans-permethrin disposition in rats and humans with aggregate exposure application. *Toxicol. Sci.* 130, 33–47.

Tornero-Velez, R., Mirfazaelian, A., Kim, K.-B., Anand, S.S., Kim, H.J., Haines, W.T., Bruckner, J.V., Fisher, J.W., 2010. Evaluation of deltamethrin kinetics and dosimetry in the maturing rat using a PBPK model. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 244, 208–217.

Trunnelle, K.J., Bennett, D.H., Ahn, K.C., Schenker, M.B., Tancredi, D.J., Gee, S.J., Stoecklin-Marois, M.T., Hammock, B.D., 2014. Concentrations of the urinary pyrethroid metabolite 3-phenoxybenzoic acid in farm worker families in the MICASA study. *Environmental Research* 131, 153–159.

Ueyama, J., Saito, I., Kamijima, M., 2010. Analysis and evaluation of pyrethroid exposure in human population based on biological monitoring of urinary pyrethroid metabolites. *J. Pestic. Sci.* 1003050115–1003050115.

Ulaszewska, M.M., Ciffroy, P., Tahraoui, F., Zeman, F.A., Capri, E., Brochot, C., 2012. Interpreting PCB levels in breast milk using a physiologically based pharmacokinetic model to reconstruct the dynamic exposure of Italian women. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 22, 601–609.

Union Européenne, 2016. Eurostat - Pesticides sales.

US EPA, 2011. Exposure Factors Handbook. EPA/600/R-090/052F. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

US EPA, 2007. Assessing Approaches for the Development of PBPK Models of Pyrethroid Pesticides. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

US EPA, 2006. Approaches for the Application of Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Models and Supporting Data in Risk Assessment. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

US EPA, 2004a. Pyrethroids: Evaluation of Data from Developmental Neurotoxicity Studies and Consideration of Comparative Sensitivity. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

US EPA, 2004b. Part II. Human Health Risk Assessment: Inhalation. U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC.

US EPA, 2004c. Supplemental Guidance for Dermal Risk Assessment. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

US EPA, 2000. Assigning Values to Non-detected /non-quantified Pesticide Residues in Human Health Food Exposure Assessments. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

US EPA, 1984. Risk Assessment and Management: Framework for Decision Making. EPA/600/985/002. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

US EPA, O., 2014. Reference Dose (RfD): Description and Use in Health Risk Assessments. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

Vadhana, M.S.D., Nasuti, C., Gabbianelli, R., 2010. Purine bases oxidation and repair following permethrin insecticide treatment in rat heart cells. *Cardiovasc. Toxicol.* 10, 199–207.

Van Maele-Fabry, G., Gamet-Payraastre, L., Lison, D., 2019. Household exposure to pesticides and risk of leukemia in children and adolescents: Updated systematic review and meta-analysis. *Int J Hyg Environ Health* 222, 49–67.

van Wendel de Joode, B., Mora, A.M., Lindh, C.H., Hernández-Bonilla, D., Córdoba, L., Wesseling, C., Hoppin, J.A., Mergler, D., 2016. Pesticide exposure and neurodevelopment in children aged 6–9 years from Talamanca, Costa Rica. *Cortex* 85, 137–150.

Veerkamp, W., Wolff, C., 1996. Fate and exposure models in relation to risk assessment. *Environ. Sci. & Pollut. Res.* 3, 91–95.

Vermeulen, R., Stewart, P., Kromhout, H., 2002. Dermal exposure assessment in occupational epidemiologic research. *Scand J Work Environ Health* 28, 371–385.

Wagner-Schuman, M., Richardson, J.R., Auinger, P., Braun, J.M., Lanphear, B.P., Epstein, J.N., Yolton, K., Froehlich, T.E., 2015. Association of pyrethroid pesticide exposure with attention-deficit/hyperactivity disorder in a nationally representative sample of U.S. children. *Environmental Health* 14, 44.

Wang, D., Kamijima, M., Imai, R., Suzuki, T., Kameda, Y., Asai, K., Okamura, A., Naito, H., Ueyama, J., Saito, I., Nakajima, T., Goto, M., Shibata, E., Kondo, T., Takagi, Kenji, Takagi, Kenzo, Wakusawa, S., 2007. Biological monitoring of pyrethroid exposure of pest control workers in Japan. *J Occup Health* 49, 509–514.

Wason, S.C., Julien, R., Perry, M.J., Smith, T.J., Levy, J.I., 2013. Modeling exposures to organophosphates and pyrethroids for children living in an urban low-income environment. *Environ. Res.* 124, 13–22.

- Wei, B., Isukapalli, S.S., Weisel, C.P., 2013. Studying permethrin exposure in flight attendants using a physiologically based pharmacokinetic model. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 23, 416–427.
- Wei, B., Mohan, K.R., Weisel, C.P., 2012. Exposure of flight attendants to pyrethroid insecticides on commercial flights: urinary metabolite levels and implications. *Int J Hyg Environ Health* 215, 465–473.
- Wielgomas, B., Krechniak, J., 2006. Toxicokinetic Interactions of α -Cypermethrin and Chlorpyrifos in Rats. *Polish Journal of Environmental Studies* 16, 267.
- Willemin, M.-E., Desmots, S., Le Grand, R., Lestremau, F., Zeman, F.A., Leclerc, E., Moesch, C., Brochot, C., 2016. PBPK modeling of the cis- and trans-permethrin isomers and their major urinary metabolites in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 294, 65–77.
- Willemin, M.-E., Kadar, A., de Sousa, G., Leclerc, E., Rahmani, R., Brochot, C., 2015. In vitro human metabolism of permethrin isomers alone or as a mixture and the formation of the major metabolites in cryopreserved primary hepatocytes. *Toxicol In Vitro* 29, 803–812.
- Wolansky, M.J., Harrill, J.A., 2008. Neurobehavioral toxicology of pyrethroid insecticides in adult animals: a critical review. *Neurotoxicol Teratol* 30, 55–78.
- Wong, W.W.K., Yau, A.T.C., Chung, S.W.C., Lam, C., Ma, S., Ho, Y.Y., Xiao, Y., 2014. Dietary exposure of Hong Kong adults to pesticide residues: results of the first Hong Kong Total Diet Study. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 31, 852–871.
- Woollen, B.H., Marsh, J.R., Laird, W.J., Lesser, J.E., 1992. The metabolism of cypermethrin in man: differences in urinary metabolite profiles following oral and dermal administration. *Xenobiotica* 22, 983–991.
- Xue, J., Zartarian, V., Tornero-Velez, R., Tulse, N.S., 2014. EPA's SHEDS-multimedia model: Children's cumulative pyrethroid exposure estimates and evaluation against NHANES biomarker data. *Environment International* 73, 304–311.
- Yang, D., Wang, X., Chen, Y., Deng, R., Yan, B., 2009. Pyrethroid insecticides: isoform-dependent hydrolysis, induction of cytochrom P450 3A4 and evidence on the involvement of the pregnane X receptor. *Toxicol Appl Pharmacol* 237, 49–58.

Zartarian, V., Xue, J., Glen, G., Smith, L., Tulse, N., Tornero-Velez, R., 2012. Quantifying children's aggregate (dietary and residential) exposure and dose to permethrin: application and evaluation of EPA's probabilistic SHEDS-Multimedia model. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 22, 267–273.

Zhang, H., 2005. A new approach for the tissue-blood partition coefficients of neutral and ionized compounds. *J Chem Inf Model* 45, 121–127.

Zhang, S.-Y., Ito, Y., Yamanoshita, O., Yanagiba, Y., Kobayashi, M., Taya, K., Li, C., Okamura, A., Miyata, M., Ueyama, J., Lee, C.-H., Kamijima, M., Nakajima, T., 2007. Permethrin may disrupt testosterone biosynthesis via mitochondrial membrane damage of Leydig cells in adult male mouse. *Endocrinology* 148, 3941–3949.

Zhang, S.Y., Ueyama, J., Ito, Y., Yanagiba, Y., Okamura, A., Kamijima, M., Nakajima, T., 2008. Permethrin may induce adult male mouse reproductive toxicity due to cis isomer not trans isomer. *Toxicology* 248, 136–141.

Zhang, Z.W., Sun, J.X., Chen, S.Y., Wu, Y.Q., He, F.S., 1991. Levels of exposure and biological monitoring of pyrethroids in spraymen. *Br J Ind Med* 48, 82–86.

Annexes

Annexe 1: Matériel supplémentaire de l'article "Estimating the cumulative human exposures to pyrethroids by combined multi-route PBPK models: Application to the French population"

Model parameterization for metabolites

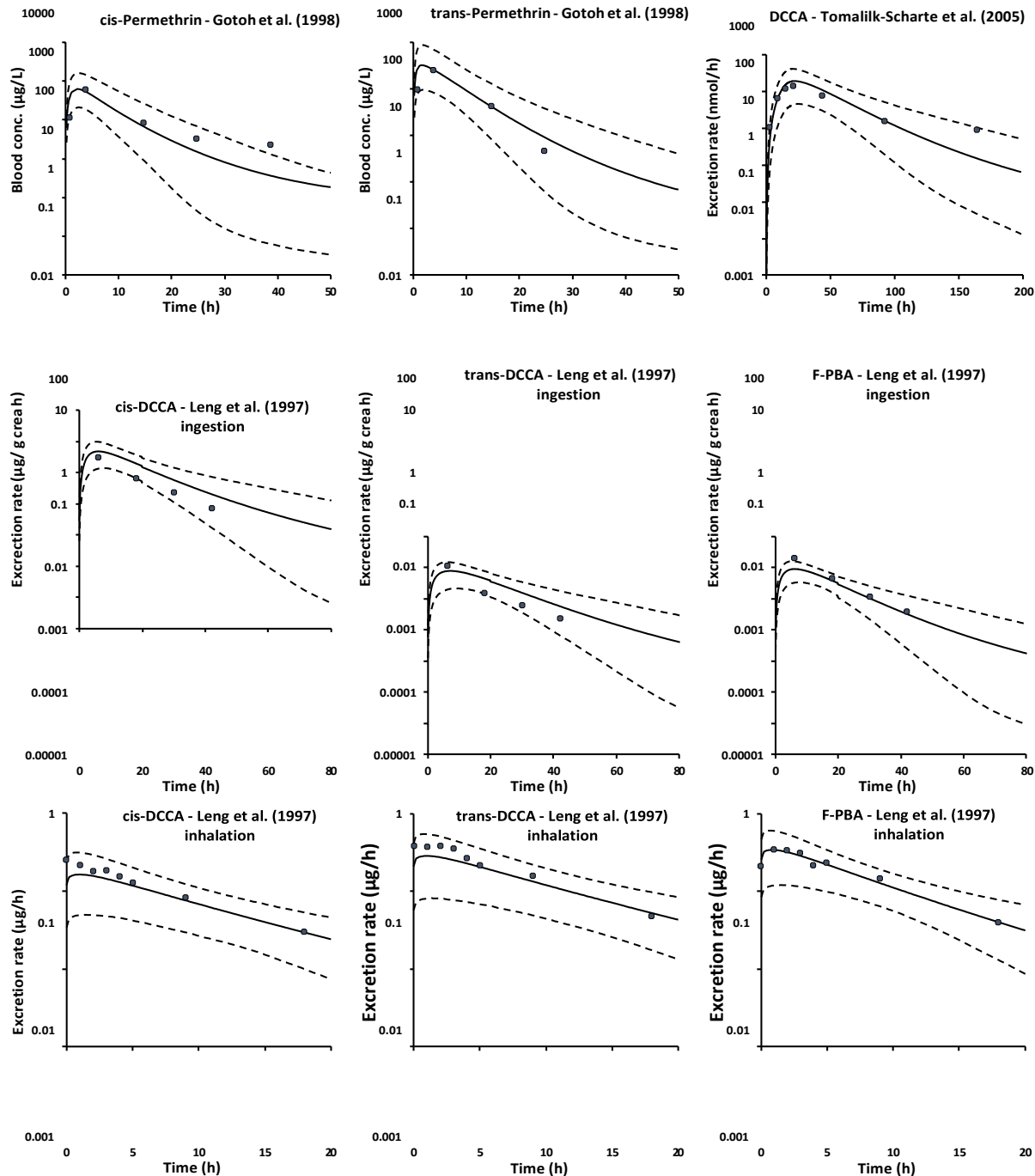
The metabolic fractions defined in our PBPK model ($Frac_{PYRtoMET}$) correspond to the fraction of metabolism of a parent compound *PYR* that is transformed into the metabolite *MET*. Most of the studies on the toxicokinetics of pyrethroids' metabolites report the molar percentage of administered parent compound (isomer dose) recovered as metabolite in urine. The following studies were used: Ratelle *et al.* (2015b) for permethrin, Ratelle *et al.* (2015a) and Woollen *et al.* (1992) for cypermethrin, Leng *et al.* (1997b) for cyfluthrin, and Sams and Jones (2012) for deltamethrin. We corrected this percentage with the oral bioavailability (70%) to obtain the PBPK metabolic fraction. In all studies, a combination of the pyrethroid isomers was given to the volunteers. The recovered amounts of 3-PBA and F-PBA were then formed by both *cis* and *trans* isomers. We used the Gaughan *et al.* (1977) data, in the same way as Tornero-Velez *et al.* (2012) for DCCA, to determine the part of 3-PBA and F-PBA that can be attributed to *cis* and *trans* isomers. When the *cis/trans* ratio was 1:1, it was assumed that 72% of 3-PBA or F-PBA was obtained from the *trans* isomer and 28% from the *cis* isomer (Gaughan *et al.*, 1977). For permethrin, the *cis/trans* is typically 0.4:0.6, so the part of 3-PBA attributed to the *cis* isomer was 0.22 and the one attributed to the *trans* isomer was 0.78.

We computed the half-lives of the metabolites in urine using the toxicokinetic data provided in the human studies. Table S1 presents the values of corresponding urinary elimination rates (h^{-1}), and the average values that were used for parameterizing the one-compartment model.

Table S1: Urinary elimination rates (h^{-1}) observed in different human toxicokinetic studies and the average value used in the model.

Metabolite	Leng <i>et al.</i> , (1997b)	Ratelle <i>et al.</i> , (2015a)	Ratelle <i>et al.</i> , (2015b)	Sams and Jones, (2012)	Woollen <i>et al.</i> , (1992)	Average
Trans-DCCA	0.131	0.108	0.107		0.081	0.107
Cis-DCCA	0.122	0.103	0.112		0.093	0.108
DBCA				0.193		0.193
3-PBA		0.100	0.103	0.098	0.075	0.094
F-PBA	0.137					0.137

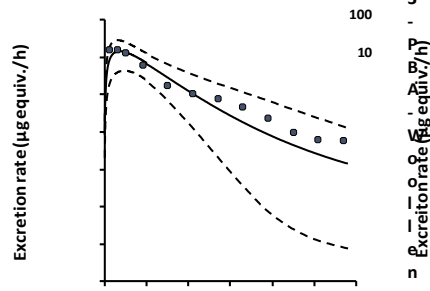
Supplementary results for model evaluation



cis-DCCA -

Woolen et al. (1992) investigation

100 trans-DCCA -
Woollen et al. (1992)
inge
stio
n



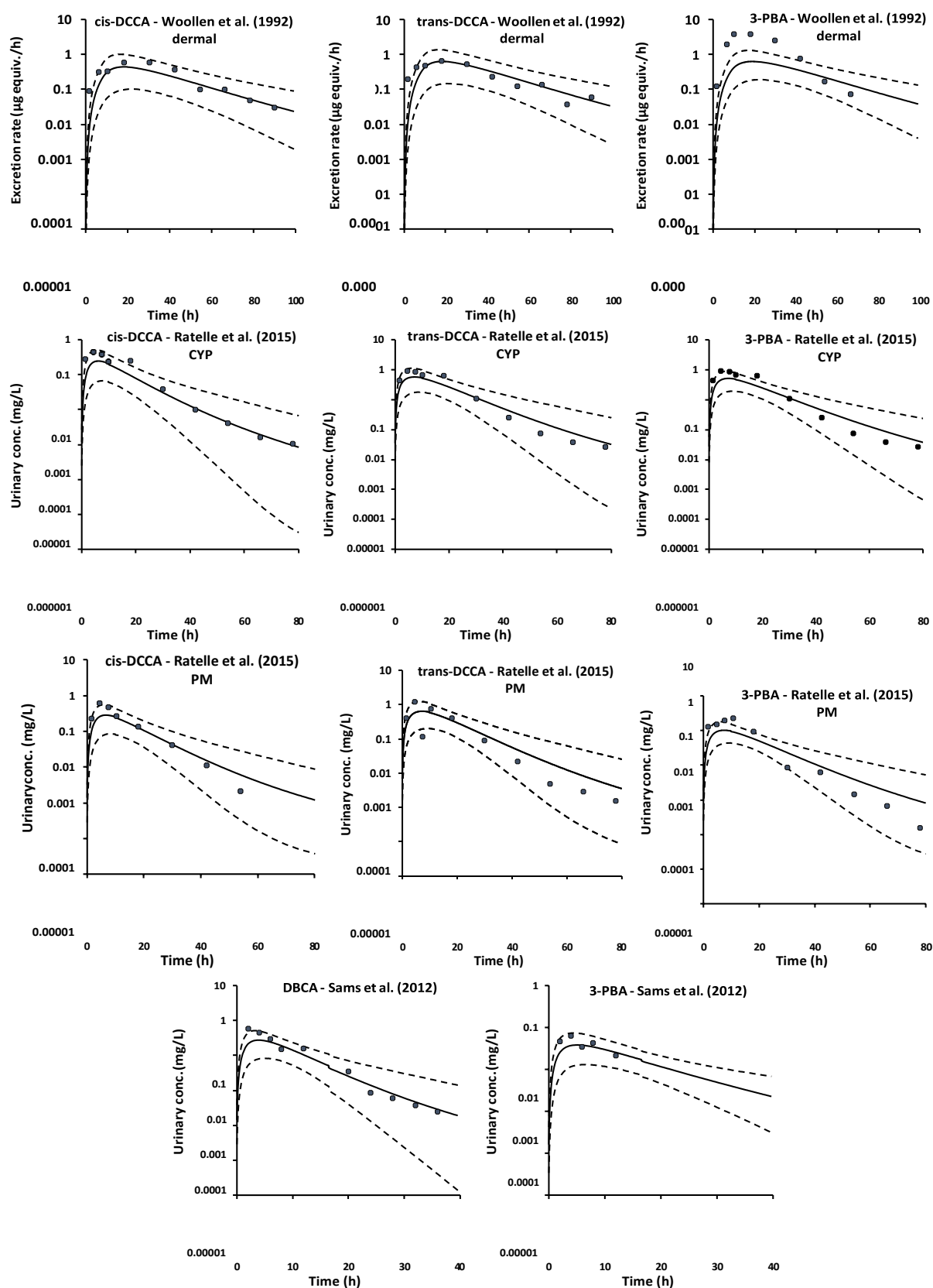
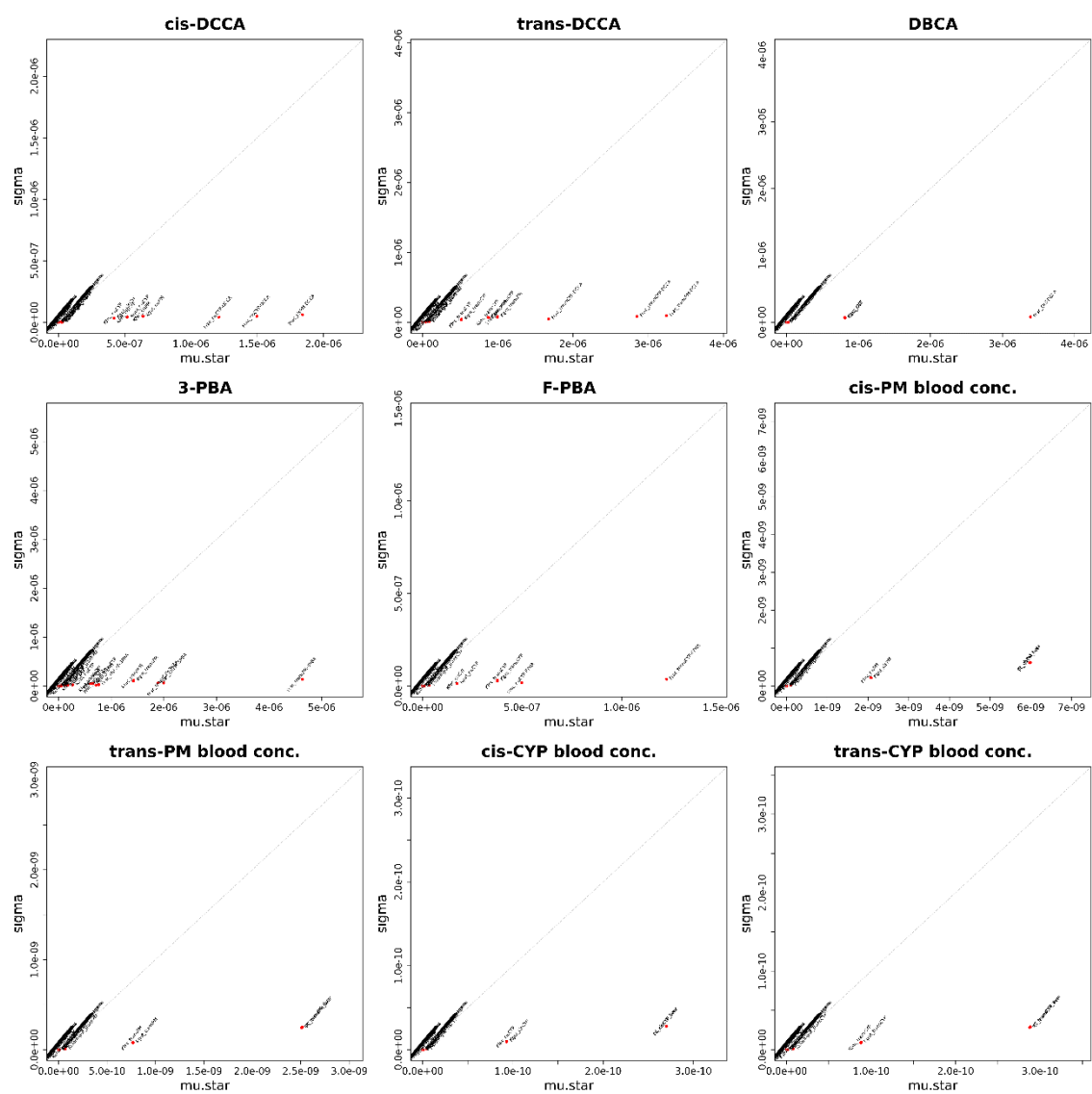


Figure S1. Comparison of model predictions (lines) with experimental data (symbols) for all the toxicokinetic studies (Woollen et al., 1992; Leng et al., 1997a; Leng et al., 1997b; Gotoh et al., 1998; Tomalik-Scharte et al., 2005; Sams and Jones, 2012; Ratelle et al., 2015a; Ratelle et al., 2015b). The 95% interval of confidence is also represented (dotted curves).

Table S2: Comparison of the average values of the Monte Carlo simulations with the experimental data (189 concentrations or urinary excretion rates). The percentage of the predictions falling in different fold-error intervals are reported.

Predictions	Cis-DCCA	Trans-DCCA	Total DCCA	DBCA	3-PBA	F-PBA	PM	Total
2-fold	67	61	86	90	56	92	44	65
3-fold	21	30	14	0	27	8	44	89
5-fold	8	6	0	10	7	0	0	95
10-fold	2	2	0	0	7	0	11	98
> 10-fold	2	2	0	0	4	0	0	2

Supplementary results for the sensitivity analyses



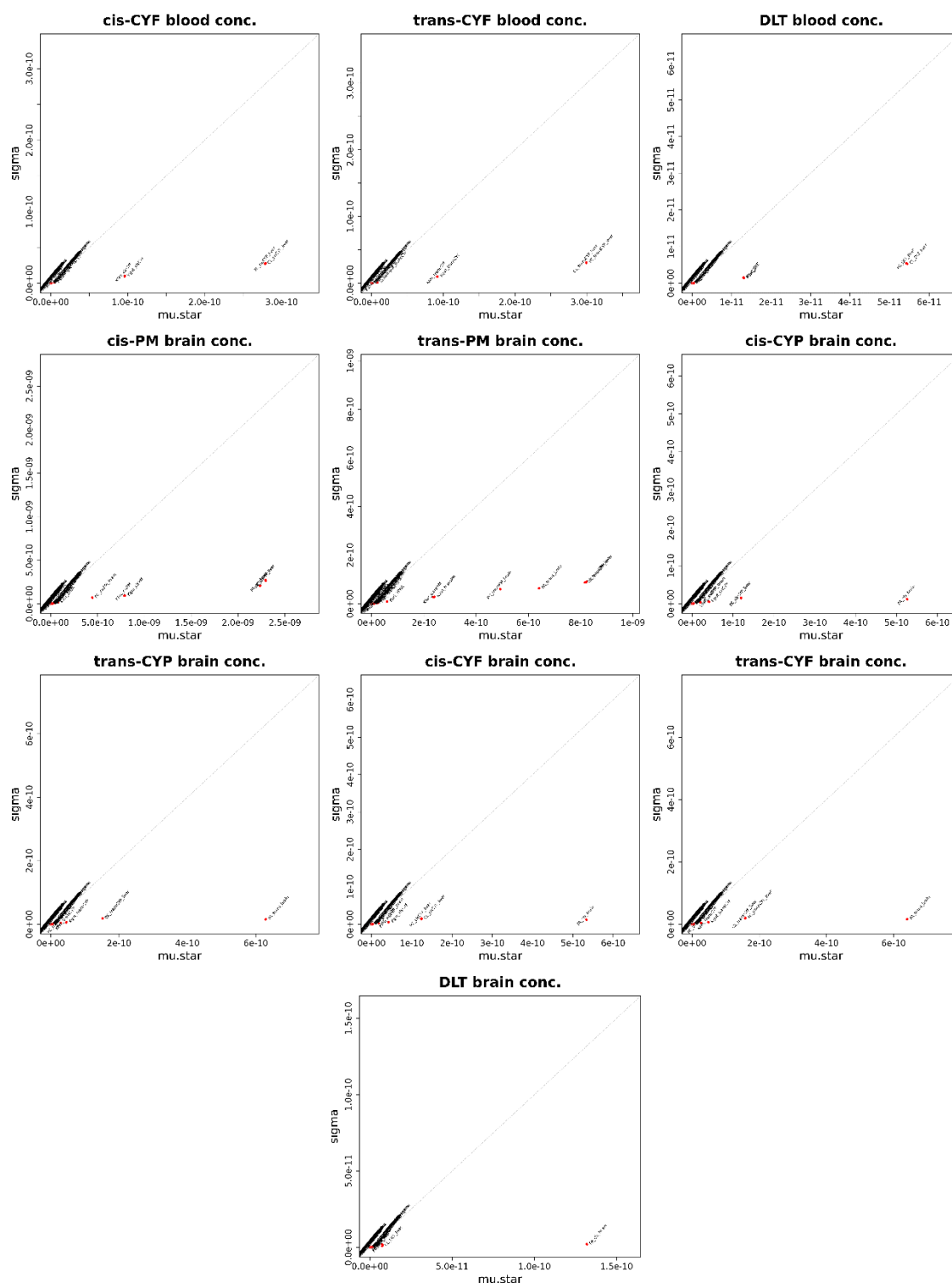
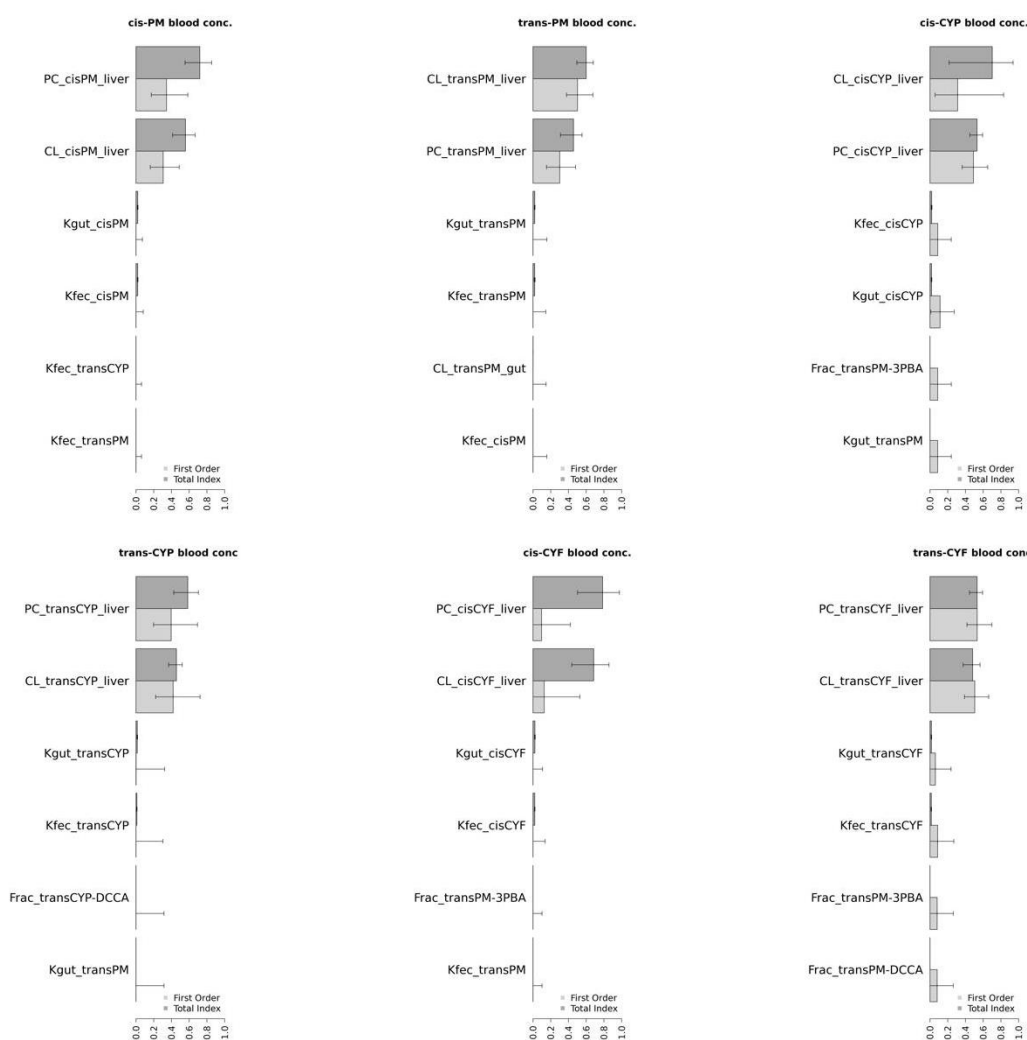


Figure S2: Plots of μ^* (μ_star) versus σ (σ) for the Morris method for metabolites, parent compounds blood and brain concentrations following exposure to cis- and trans-permethrin, cis- and trans-cypermethrin, cis- and trans-cyfluthrin and deltamethrin.

Table S3: List of the 46 model parameters that impact the most the pyrethroids' brain and blood concentrations, and the urinary concentrations of the five metabolites of interest. These parameters were selected with the Morris method.

Parameters			
Kgut_cisCYP	Kgut_transCYP	Kgut_cisPM	Kgut_transPM
Kgut_cisCYF	Kgut_transCYF	Kfec_cisCYP	Kfec_transCYP
Kfec_cisPM	Kfec_transPM	Kfec_cisCYF	Kfec_transCYF
Kgut_DLT	Kfec_DLT	PC_cisCYP_liver	PC_transCYP_liver
PC_cisPM_liver	PC_transPM_liver	PC_cisCYF_liver	PC_transCYF_liver
PC_DLT_liver	PA_cis_brain	PA_trans_brain	PA_DLT_brain
CL_cisCYP_liver	CL_transCYP_liver	CL_cisPM_liver	CL_transPM_liver
CL_transPM_gut	CL_cisCYF_liver	CL_transCYF_liver	CL_DLT_liver
Frac_cisPM-DCCA	Frac_transPM-DCCA	Frac_cisCYP-DCCA	Frac_transCYP-DCCA
Frac_cisCYF-DCCA	Frac_transCYF-DCCA	Frac_transPM-3PBA	Frac_cisPM-3PBA
Frac_transCYP-3PBA	Frac_cisCYP-3PBA	Frac_cisCYF-FPBA	Frac_transCYF-FPBA
Frac_DLT-3PBA	Frac_DLT-DBCA		



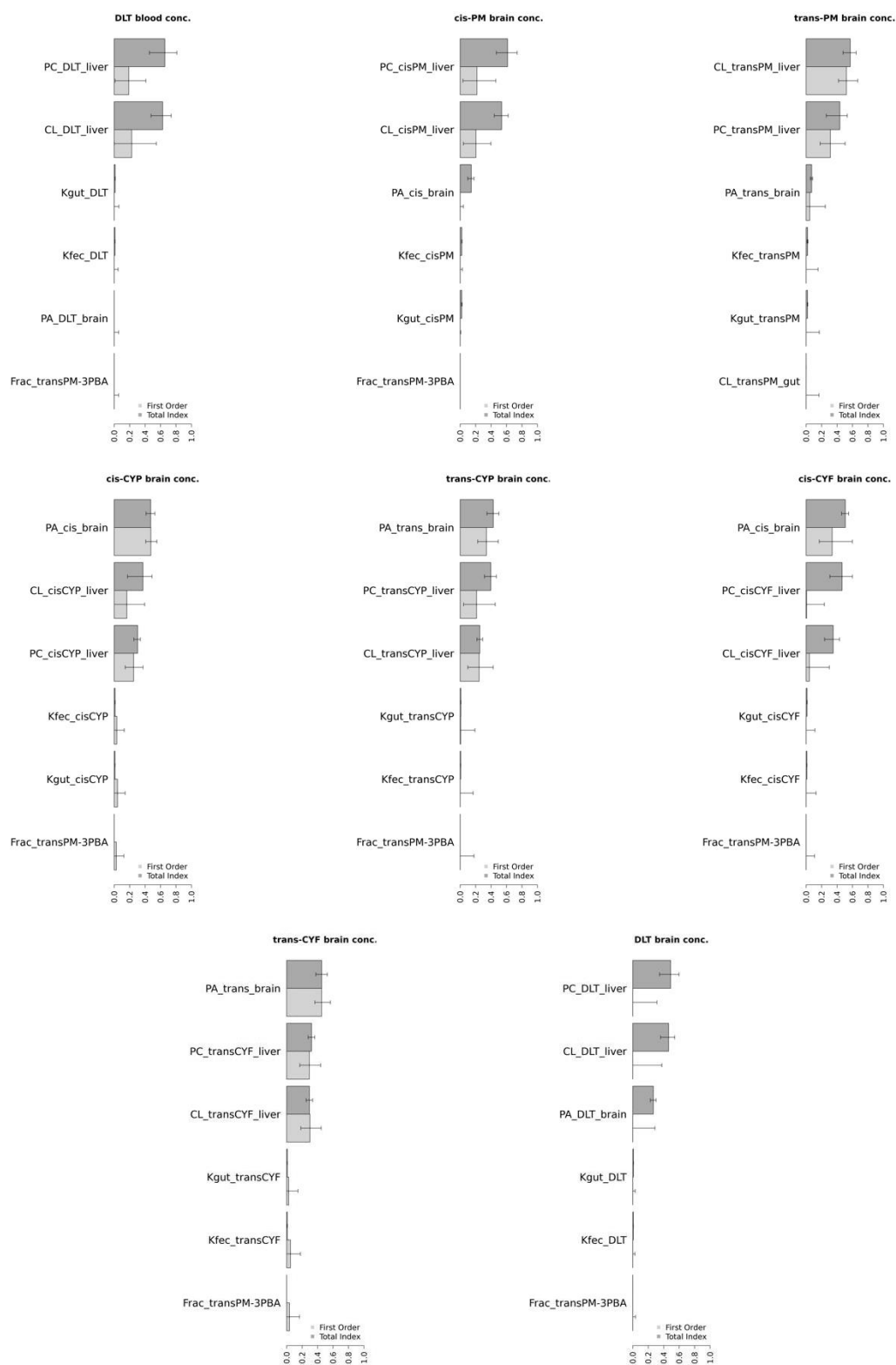


Figure S3: First-order (light grey) and Total (dark grey) Sobol sensitivity indices for parent compounds concentrations in blood and brain following exposure to cis- and trans-permethrin, cis- and trans-cypermethrin, cis- and trans-cyfluthrin and deltamethrin.

References

- Gaughan, L.C., Unai, T., Casida, J.E., 1977. Permethrin Metabolism in Rats. *J Agr Food Chem.* 25, 9-17.<http://doi.org/10.1021/Jf60209a005>.
- Gotoh, Y., Kawakami, M., Matsumoto, N., Okada, Y., 1998. Permethrin emulsion ingestion: Clinical manifestations and clearance of isomers. *J Toxicol-Clin Toxic.* 36, 57-61
- Leng, G., Kuhn, K.H., Idel, H., 1997a. Biological monitoring of pyrethroids in blood and pyrethroid metabolites in urine: applications and limitations. *Sci Total Environ.* 199, 173-181
- Leng, G., Leng, A., Kuhn, K.H., Lewalter, J., Pauluhn, J., 1997b. Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide cyfluthrin: urinary metabolite profile following inhalation. *Xenobiotica.* 27, 1273-1283.<http://doi.org/10.1080/004982597239859>.
- Ratelle, M., Cote, J., Bouchard, M., 2015a. Time profiles and toxicokinetic parameters of key biomarkers of exposure to cypermethrin in orally exposed volunteers compared with previously available kinetic data following permethrin exposure. *J Appl Toxicol.* 35, 1586-1593.<http://doi.org/10.1002/jat.3124>.
- Ratelle, M., Cote, J., Bouchard, M., 2015b. Toxicokinetics of permethrin biomarkers of exposure in orally exposed volunteers. *Toxicol Lett.* 232, 369-375.<http://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.12.003>.
- Sams, C., Jones, K., 2012. Biological monitoring for exposure to deltamethrin: A human oral dosing study and background levels in the UK general population. *Toxicol Lett.* 213, 35-38.<http://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.04.014>.
- Tomalik-Scharte, D., Lazar, A., Meins, J., Bastian, B., Ihrig, M., Wachall, B., Jetter, A., Tantcheva-Poor, I., Mahrle, G., Fuhr, U., 2005. Dermal absorption of permethrin following topical administration. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 61, 399-404.<http://doi.org/10.1007/s00228-005-0932-7>.
- Tornero-Velez, R., Davis, J., Scollon, E.J., Starr, J.M., Setzer, R.W., Goldsmith, M.R., Chang, D.T., Xue, J.P., Zartarian, V., DeVito, M.J., Hughes, M.F., 2012. A Pharmacokinetic Model of cis- and trans-Permethrin Disposition in Rats and Humans With Aggregate Exposure Application. *Toxicol Sci.* 130, 33-47.<http://doi.org/10.1093/toxsci/kfs236>.
- Woollen, B.H., Marsh, J.R., Laird, W.J., Lesser, J.E., 1992. The metabolism of cypermethrin in man: differences in urinary metabolite profiles following oral and dermal administration.

Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems. 22, 983-991.<http://doi.org/0049-8254/92>.

Annexe 2: Matériel supplémentaire de l'article "Aggregate exposure to pyrethroids in France: comparison of modelled and measured urine metabolite concentrations and cumulative risk assessment for neurotoxic effect"

Table S1. Summary of veterinary use for pet treatments and measurement of permethrin in each veterinary product.

Utilisation	% total uses¹	Number of products with permethrin authorized by the ANMV² institution	% of used products containing permethrin	Mean (min-max) permethrin concentration (mg/m²) applied on the skin of the animal
Collar	39%	1	1.92%	94.9
Spot-on	25%	61	35.1%	672.0 (470.7 - 2020)
Spray, cutaneous application	14%	20	18.7%	3794.7 (10.6 – 11110)
Shampoo	9%	2	12.5%	10.3

¹Data issued from the Anses report (2010) in French population.

²ANMV: French Agency for Veterinary Medicinal Product (ANMV)

Table S2. Proportion of pyrethroid concentrations higher than the LOD and the LOQ in air outside dwellings in different regions of France.

Region	Substance	LOD (ng.m ³)	LOQ (ng.m ³)	% > LOD	% > LOQ	Max	Reference
All regions apart from regions cited below	Cyfluthrin		0.071		0%	<LOQ	(AIRPARIF, 2016; ASPA, 2016; Breizh, 2008; Breizh, 2012; Breizh, 2015; Lig'Air, 2014; Lig'Air, 2015; Lig'Air, 2016; Lig'Air, 2017; Loire, 2005; Loire, 2008; Nouvelle-Aquitaine, 2017; ORAMIP, 2013; ORAMIP, 2014; Pas-de-Calais, 2015a; Pas-de-Calais, 2015b; Pas-de-Calais, 2016)
	Cypermethrin	0.005		0%		<LOD	
	Deltamethrin	0.016		0%		<LOD	
	Permethrin	0.07		0%		<LOD	
Centre	Cyfluthrin		0.071		7%	1.77	Lig'Air (2014)
Ile-de-France	Permethrin		0.05		13.5%	0.26	AIRPARIF (2016)
Concentration range (ng.m³)							
		0	<0.01	0.01 to 0.1	0.1 to 1		
PACA	Cypermethrin	30	26	44	0		AirPACA (2015)
	Deltamethrin	93	5	2	0		
	Permethrin	53	0	40	8		

LOD: limit of detection; LOQ: limit of quantification

Table S3. Medians and confidence intervals of 95% for dietary exposure of the main food contributors (>5% of dietary exposure) for each pyrethroid expressed in $\text{ng.kg}^{-1}_{\text{bw.d}^{-1}}$ using the refine scenario.

Food name	Percentage individuals with food exposure	Cyfluthrin		Cypermethrin		Deltamethrin		Permethrin	
		Contribution	Exposure for all individuals	Contribution	Exposure for all individuals	Contribution	Exposure for all individuals	Contribution	Exposure for all individuals
Bananas	70%	8%	0.07 [0-10.0]						
Cauliflower	71%	5%	0.09 [0-9.9]						
Milk cattle	99%	50.2%	10.2 [0.3-42.6]	22%	10.2 [0.4-42.6]	22%	10.2 [0.4-42.6]	43%	10.2 [0.4-42.6]
Poultry meat	81%			7%	3.1 [0-16.9]	6%	2.3 [0-12.8]	6%	2.0 [0-7.5]
Rice	88%					21%	8.3 [0-56.7]		
Swine meat	93%					30%	15.1 [0-53.2]	29%	7.7 [0-27.1]
Tomatoes	95%			5%	2.3 [0-11.5]				
Wheat (spelt, triticale)	100%			38%	22.0 [5.8-51.4]				

Annexe 3: Matériel supplémentaire de l'article "A reverse dosimetry approach using physiologically based pharmacokinetic modeling to estimate the exposure of populations to pyrethroids in mixtures"

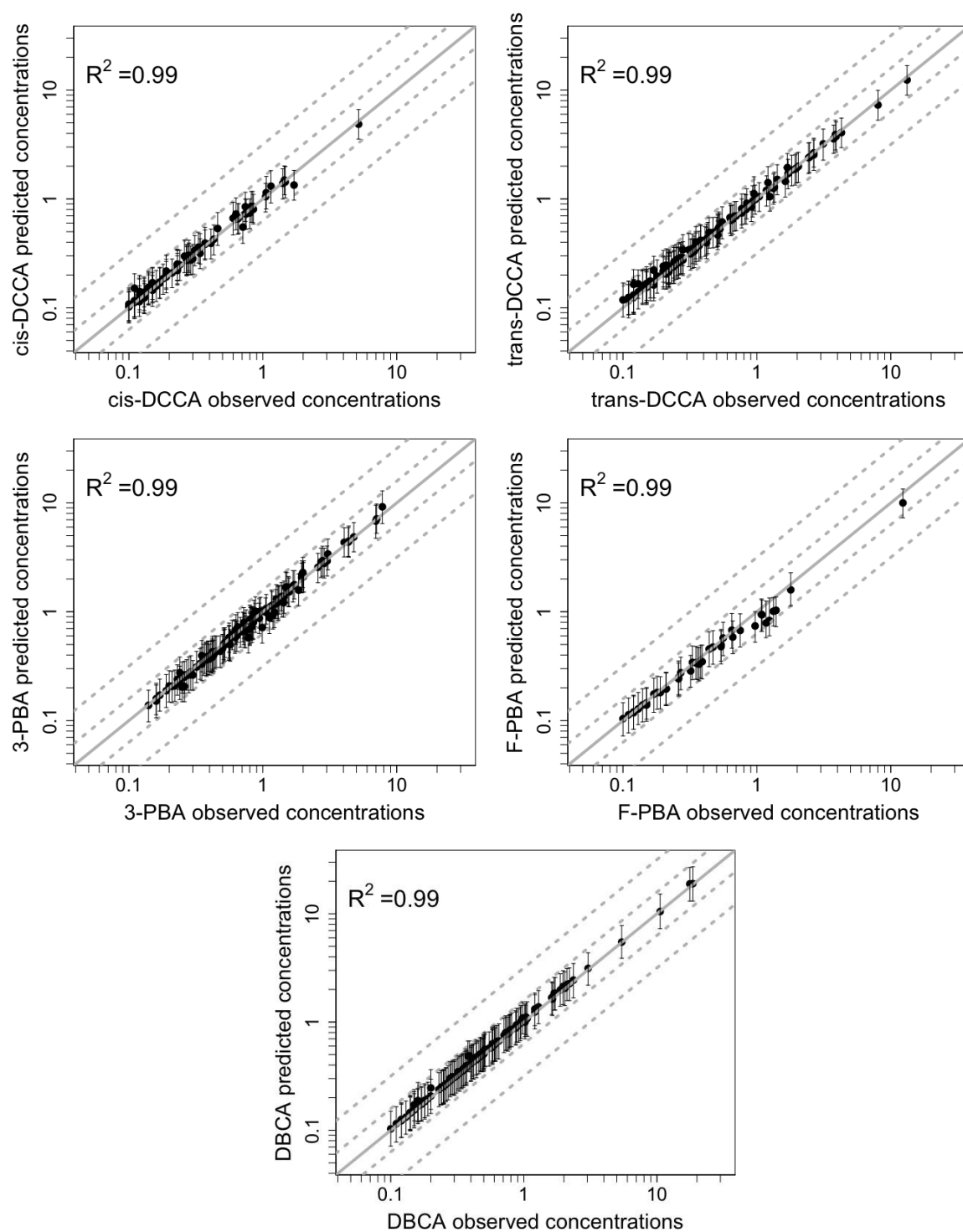


Figure S1: Men predicted vs observed concentrations ($\mu\text{g/L}$) of cis-DCCA, trans-DCCA, 3-PBA, F-PBA and DBCA obtained with reverse dosimetry. The dashed lines represent the 2-fold and the 5-fold interval.

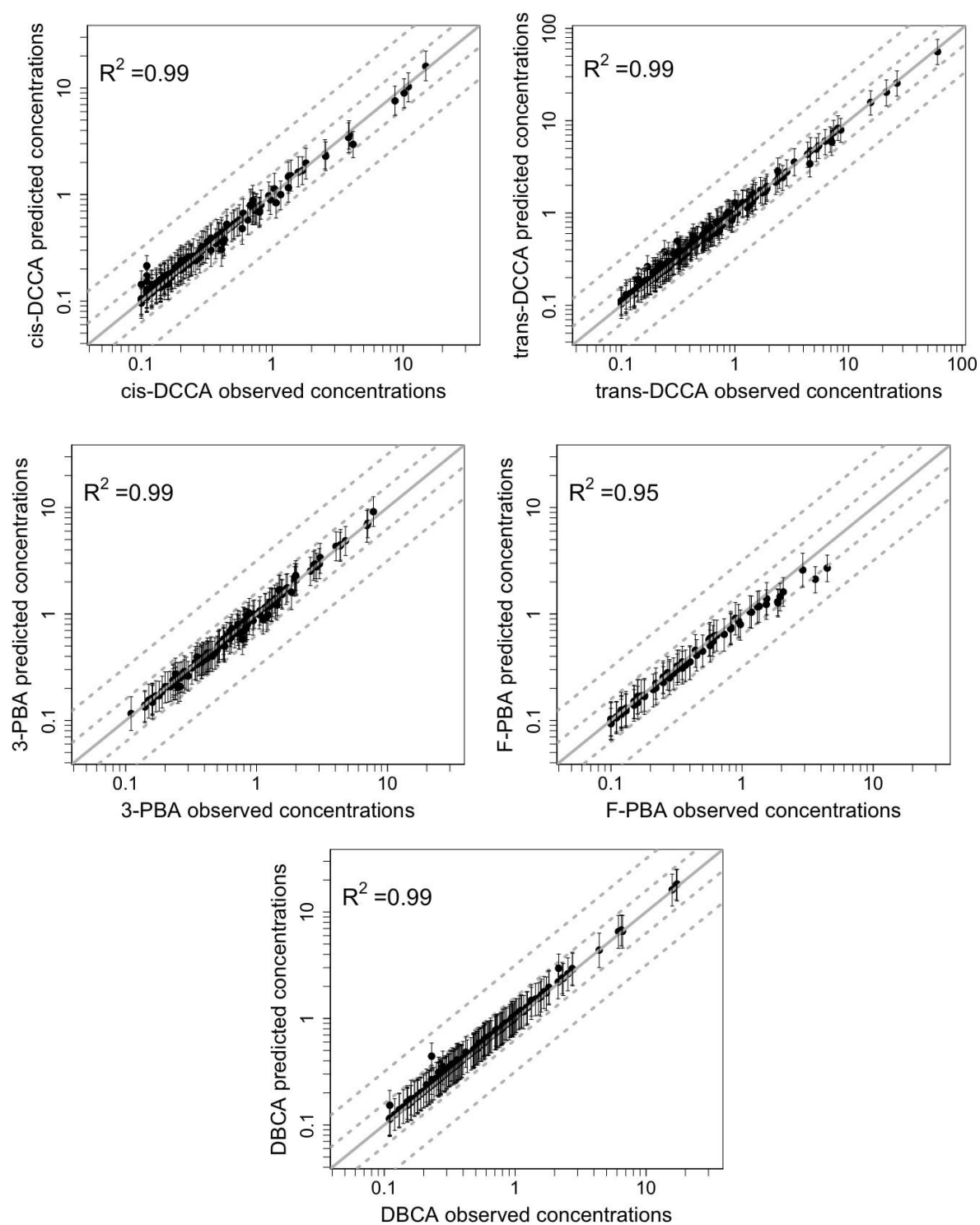


Figure S2: Women predicted vs observed concentrations ($\mu\text{g/L}$) of cis-DCCA, trans-DCCA, 3-PBA, F-PBA and DBCA obtained with reverse dosimetry. The dashed lines represent the 2-fold and the 5-fold interval.

Annexe 4: Épreuves auteur “Modelling the Fate of Chemicals in Humans Using a Lifetime Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Model in MERLIN-Expo”

Publié dans *Modelling the Fate of Chemicals in the Environment and the Human Body*, pp.215-257. *The Handbook of Environmental Chemistry*.

Céline Brochot and Paul Quindroit

Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS), Unité Modèles pour l'Ecotoxicologie et la Toxicologie (METO), Parc ALATA BP2, 60550 Verneuil en Halatte, France

Abstract

This chapter presents the human model implemented in MERLIN-Expo. This model is a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model that describes the relationship between an external dose and an internal dosimetry using parameters related to the anatomy and physiology of individuals and the physico-chemical properties of the contaminants. The goal of the PBPK model is to simulate the toxicokinetics of contaminants in humans, *e.g.* the amounts or concentrations of contaminants in different organs/tissues, under various exposure conditions. The generic PBPK model is based on a detailed compartmentalisation of the human body and parameterised with relationships describing the time evolution of the physiology and anatomy of the individuals. In this chapter, we present the detailed description of the human model and the conditions to apply it in MERLIN-Expo. Finally, the model predictability is evaluated by a direct comparison between computational predictions and experimental data on small case studies.

Keywords: Childhood, Environmental chemicals, Humans, Lifetime exposure, PBPK model

Introduction

Humans are constantly exposed to a multitude of compounds including during the in utero life. Numerous monitoring studies in environmental media (outdoor and indoor air, river, soil, sediments, *etc.*), food and drinking water showed the diversity of the chemical compounds to which humans are exposed daily. The extent of the internal exposure in humans is governed by the external exposure and also the kinetics of the compounds (called toxicokinetics for chemicals and pharmacokinetics for therapeutic compounds) that are the processes of absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME). Toxicokinetic models are mathematical tools used to describe the ADME processes in living organisms and aim to link an external exposure to an internal dosimetry in humans (*e.g.* concentration in blood, in urine or in tissues). A class of toxicokinetic models, the physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models, bases the description on the ADME processes on the physiology and the anatomy of individuals and the biochemistry of the compounds [1–4]. A PBPK model subdivides the body in compartments representing organs connected through a fluid, usually blood. Model parameters correspond to physiological and biochemical entities specific to the body and compounds, such as organ volumes, tissue blood flows, affinities of the compounds for the tissues or metabolic clearances. The concept of toxicokinetic modelling based on mass transfers of compounds between compartments having a physiological meaning was first introduced by Teorell in the late 1930s [5]. However, in the absence of adequate integration tools, Teorell had to simplify the model to one or two compartments without physiological significance. The development of PBPK models came with the advent of powerful computing capabilities.

PBPK models can be specific to a compound or a chemical family, but some of them aim to be generic, *i.e.* applied to a large number of compounds, different individuals or populations, and be applied over long time periods as the lifetime [6–8]. This latter feature is of importance when considering exposure to persistent or semi-persistent compounds that could lead to high body burdens over the years [9]. In such cases, the PBPK model is able to deal the physiological or biochemical variations that arise throughout the growth and the development of a child. Mathematical functions describing the time variations can be assigned to the model parameters and be used to evaluate the influence of these changes on the chemical toxicokinetics [10–12].

PBPK modelling is now a mathematical tool commonly used in toxicological risk assessment [13, 14] and also in pharmaceutical industries for the development of new therapeutic

substances [15]. In particular, PBPK models can be applied in two different steps of the risk assessment framework. First, these models can be used to better characterise the relationship between the exposure dose and the adverse effects by modelling the internal exposure in the target tissues (*i.e.* where the toxic effects arise) [16]. Secondly, PBPK models can be used in the exposure assessment to estimate the external exposure using human biomonitoring data, like the concentrations of chemicals in blood or urine [17 , 18]. These predictions can then be compared to existing exposure guidance or reference values such as tolerable daily intakes [19].

In this chapter, we present the generic PBPK model that is implemented in MERLIN-Expo. We start with the description of the model, explain how to use it within MERLIN-Expo and describe some features that can be relevant for building realistic exposure scenarios for risk assessment. Finally we apply the model to simple case studies.

Description of the Human PBPK Model

The generic PBPK model provides a detailed description of the human body subdivided into 22 compartments (Figure 1). The organs/tissues represented as compartments are (the name of the compartment is given in parentheses): the adipose tissues (Adipose), the adrenal glands (Adrenal), the alveolar space (AlveolarSpace), the arterial blood (ArterialBlood), the perfused bones (Bones), the brain (Brain), the breast (Breast), the gut wall (Gut), the gut lumen (Gut_Lumen), the heart (Heart), the kidneys (Kidneys), the liver (Liver), the lungs (Lungs), the bone marrow (Marrow), the muscles (Muscle), the pancreas (Pancreas), the sexual organs (Sexual_Organs), the skin (Skin), the spleen (Spleen), the stomach wall (Stomach), the stomach lumen (Stomach_Lumen), the thyroid (Thyroid), the organs/tissues that composed the urinary tract (Urinary_Tract) and the venous blood (VenousBlood). Blood (arterial and venous) links the compartments together (black plain arrows in Figure 1) but other transfers of contaminants between the compartments can occur (*e.g.*, transfer in stomach and gut lumen, bile excretion) and are represented by black dotted arrows. The loading inputs *via* inhalation and ingestion are indicated by red arrows and the potential losses of contaminants (metabolism and excretion) by green arrows. The model structure is identical for man and woman.

The generic PBPK model yields to a set of ordinary differential equations that describe the ADME processes. The mathematical equations used to model the anatomical and physiological evolution of the body through lifetime are also integrated for the model parameters. The description of these processes is based on several publications [1-3]. In the following, the amounts are expressed in mg, the concentrations in mg/L, the volumes in L, the blood flows in L/min.

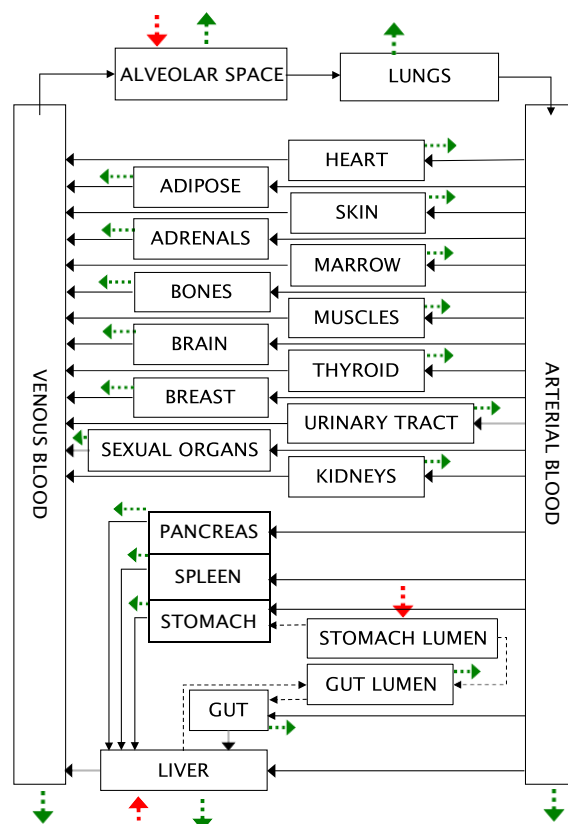


Figure 1: The human PBPK model in MERLIN-Expo

Absorption

Two major routes of exposure for environmental contaminants are included in the PBPK model: the inhalation and the ingestion.

Inhalation

Gas exchanges were all assumed to take place in the alveoli at the end of the respiratory tree. The lungs, as an organ (*i.e.*, with distribution, accumulation or elimination processes) were modeled separately in another compartment. In the PBPK model structure, the alveolar space is located between the venous blood and the lungs (Figure 1). A simple model was selected to describe gas exchanges. A few assumptions were made, as done usually in PBPK models [4]: (i) a one-directional airflow was assumed in the region of gas exchange (*i.e.*, with air moving through the lungs with a constant flow rate equal to the alveolar ventilation rate), (ii) a rapid equilibrium is reached between the lung air and blood in the alveoli, *i.e.*, the alveolar concentration is given by dividing the arterial blood concentration by the blood:air partition

coefficient. The exchanges between air and blood were modeled in the alveolar space as follows:

$$\frac{d\text{AlveolarSpace}(t)}{dt} = Q_C \times (C_{\text{BloodVenous}}(t) - C_{\text{Alveolar}}(t)) + Q_P \times C_{\text{Inhaled}}(t) \times \text{Abs}_{\text{Inhalation}} - Q_P \times \frac{C_{\text{Alveolar}}(t)}{\text{PC}_{\text{Blood:Air}}} \quad (1)$$

where AlveolarSpace is the amount in the alveolar space (mg), Q_C is the cardiac output (total blood flow) (L/min), $C_{\text{BloodVenous}}$ is the concentration in the venous blood (mg/L), C_{Alveolar} is the concentration in the alveolar space (mg/L), Q_P is the alveolar ventilation rate (L/min), C_{Inhaled} is the concentration of contaminant in inhaled air (mg/L), $\text{Abs}_{\text{Inhalation}}$ is the fraction of contaminant inhaled (unitless), $\text{PC}_{\text{Blood:Air}}$ is the blood:air partition coefficient (unitless).

The concentration of contaminants in the alveolar space (C_{Alveolar}) is calculated as the ratio of the amount of contaminant in the alveolar space over its volume (V_A):

$$C_{\text{Alveolar}}(t) = \frac{\text{AlveolarSpace}(t)}{V_A} \quad (2)$$

In Equation (1), two compound-specific parameters were introduced: the fraction of contaminant absorbed *via* inhalation ($\text{Abs}_{\text{Inhalation}}$) and the blood:air partition coefficient ($\text{PC}_{\text{Blood:Air}}$). The fraction of contaminant absorbed *via* inhalation ($\text{Abs}_{\text{Inhalation}}$) was defined to control the quantity of contaminant that is absorbed by inhalation. This fraction was introduced to take into account mechanisms that may not be well described for some contaminants between an intake and the subsequent concentrations in the body. The blood:air partition coefficient ($\text{PC}_{\text{Blood:Air}}$) describes the uptake and the elimination of the contaminant *via* lungs and is defined as the ratio of the concentration of contaminant in blood over the concentration in air at equilibrium.

Ingestion

Oral absorption refers to the transport of the molecules across the enterocytes lining the gastrointestinal tract into the venous capillaries along the gut wall. The majority of compound absorption occurs in the small intestine because of its large absorptive surface area and high blood perfusion rate. Compounds that are not completely absorbed from the small intestine can still be absorbed in the large intestine despite a small absorptive surface area. In our PBPK model, two models were defined for ingestion: a simplified model for the gastrointestinal tract

and a direct input in the liver. The simplified model consists in separating the gastrointestinal

tract into the stomach and the guts. Each of these was divided into 2 compartments: the lumen (in which the contaminant enters) and the wall (linked to the systemic circulation). The compound first enters in the stomach lumen and either can be absorbed and passed in the stomach wall or can be transferred to the gut lumen. In the gut lumen, the compound can be absorbed (and reach the systemic circulation *via* the gut wall) or be excreted in the feces. The exchanges between the lumen and the wall are modeled by a first order reaction dependent of the concentration of contaminant in the stomach or gut lumen. Alternatively, a direct input can be made in the liver. However, in that case local metabolism in the gut may not be correctly described but this could be compensated using a fraction of contaminant absorbed lower than 1 (see Equation (11) below).

Differential equations for stomach

The stomach is composed by two compartments: the wall and the lumen. The ingested contaminant is introduced in the stomach lumen and can pass to either the stomach wall or the gut lumen. The stomach wall is perfused and then linked to the circulatory system. The equation for the stomach lumen is:

$$\frac{d\text{StomachLumen}(t)}{dt} = \text{Ingestion_GIT} - K_{a\text{stomach}} \times \text{StomachLumen}(t) - K_{\text{stom2gut}} \times C_{\text{StomachLumen}}(t) \quad (3)$$

where StomachLumen is the amount in the stomach lumen (mg), $C_{\text{StomachLumen}}$ the concentration in the stomach lumen (mg/L), $K_{a\text{stomach}}$ the absorption rate constant in the stomach (min⁻¹), K_{stom2gut} the rate constant for the transfer to gut lumen (L/min), and Ingestion_GIT the intake of contaminant (mg/min). The first term of Equation (3) corresponds to the ingestion, the second term to the absorption through the stomach and the last term to the transfer to the gut lumen. The differential equation for the stomach wall is:

$$\frac{d\text{Stomach}(t)}{dt} = K_{a\text{stomach}} \times \text{StomachLumen}(t) + Q_{\text{Stomach}} \times \left(\frac{C_{\text{BloodArterial}}(t)}{PC_{\text{Stomach}}} - C_{\text{Stomach}}(t) \right) - RoM_{\text{Stomach}}(t) - RoE_{\text{Stomach}}(t) \quad (4)$$

with StomachLumen the amount in the stomach lumen (mg), $K_{a\text{stomach}}$ the absorption rate constant in the stomach (min⁻¹), Q_{Stomach} the blood flow entering the stomach wall (L/min), $C_{\text{BloodArterial}}$ the concentration in the arterial blood (mg/L), C_{Stomach} the concentration in the stomach wall (mg/L), PC_{Stomach} the stomach:blood partition coefficient (unitless), and the rates of metabolism and excretion RoM_{Stomach} and RoE_{Stomach} in mg/min (see below for the description of metabolism and excretion processes).

Differential equations for gut

The gut is composed by two compartments: the wall and the lumen. The ingested contaminant is introduced in the stomach lumen and can reach the gut lumen. In the lumen, the contaminant can be excreted *via* feces or absorbed in the gut wall to reach the blood circulation. The gut wall is perfused and then linked to the circulatory system. The equation for the gut lumen is:

$$\frac{d\text{GutLumen}(t)}{dt} = K_{\text{stom2gut}} \times C_{\text{StomachLumen}}(t) + K_{\text{e}_{\text{bile}}} \times \text{Liver}(t) - K_{\text{gut2faeces}} \times C_{\text{GutLumen}}(t) - K_{\text{a}_{\text{Gut}}} \times \text{GutLumen}(t) \quad (5)$$

The first term of the equation (5) corresponds to the input from the stomach lumen, the second term to excretion *via* bile from the liver, the third term to the excretion in the faeces and the last term to the absorption in the gut wall. The notations used in equation (5) are: GutLumen is the amount in the gut lumen (mg), Liver is the amount in the liver (mg). C_{GutLumen} is the concentration in the gut lumen (mg/L), $C_{\text{StomachLumen}}$ is the concentration in the stomach lumen (mg/L), K_{stom2gut} is the rate constant for the transfer to gut lumen (L/min), $K_{\text{gut2faeces}}$ is the rate constant for the excretion in faeces (L/min), $K_{\text{e}_{\text{bile}}}$ is the biliary excretion rate (min⁻¹), $K_{\text{a}_{\text{Gut}}}$ is the absorption rate constant in the gut wall (min⁻¹). The equation for the gut wall is:

$$\frac{d\text{Gut}(t)}{dt} = K_{\text{a}_{\text{Gut}}} \times \text{GutLumen}(t) + Q_{\text{Gut}} \times \left(\frac{C_{\text{BloodArterial}}(t)}{PC_{\text{Gut}}} - C_{\text{Gut}}(t) \right) - \text{RoM}_{\text{Gut}}(t) - \text{RoE}_{\text{Gut}}(t) \quad (6)$$

with GutLumen the amount in the gut lumen (mg), $K_{\text{a}_{\text{Gut}}}$ the absorption rate constant in the gut (min⁻¹), Q_{Gut} the blood flow entering the gut wall (L/min), $C_{\text{BloodArterial}}$ the concentration in the arterial blood (mg/L), C_{Gut} the concentration in the gut wall (mg/L), PC_{Gut} the gut:blood partition coefficient (unitless), and the rates of metabolism and excretion RoM_{Gut} and RoE_{Gut} in mg/min (see below for the description of metabolism and excretion processes).

Distribution in compartments

Distribution refers to the reversible partitioning of a compound into the various tissues of the body from the systemic circulation. Each organ or tissue can receive different doses of the compound and the compound can remain in the organs or tissues for a varying amount of time. The compound can be moved from the blood to the tissue until the equilibrium is established. The distribution in the tissues or organs depend on factors related to the physiology of the individual (*e.g.*, vascular permeability, regional blood flow, cardiac output and perfusion rate of the tissue) and factors related to the compound (*e.g.*, molecular size, lipid solubility, pKa, affinity to bind tissue and plasma proteins). Distribution occurs rapidly into highly perfused

tissues such as the liver, heart and kidney. Other tissues with a slower rate of distribution (such as muscle or adipose tissues) will continue to absorb the compound from the plasma over a longer period.

In our model, the blood flow is assumed to be unidirectional, constant and non-pulsatile, and the compound is assumed to distribute evenly and homogeneously throughout the compartment volume. Moreover the compound distribution into all compartments is assumed to be limited by perfusion, *i.e.*, the tissue membranes present no barrier to diffusion. Blood flow is then the limiting factor to distribution in the various organs or tissues. The extent of tissue distribution is determined by a partition coefficient that is a measure of the compound's affinity to the tissue.

Standard differential equations

Most of the compartments share the same differential equations to describe the behavior of the compound. For all the compartments except the compartments involved in the absorption of contaminants (*i.e.*, the gut and stomach lumen for ingestion and the alveolar space, the arterial and venous blood for inhalation) and the liver that has two blood supplies, the amount in the compartment named Cpt is given by:

$$\frac{dC_{pt}(t)}{dt} = Q_{Cpt} \times \left(\frac{C_{BloodArterial}(t)}{PC_{Cpt}} - C_{Cpt}(t) \right) - RoM_{Cpt}(t) - RoE_{Cpt}(t) \quad (7)$$

where C_{pt} is the amount in the compartment Cpt (mg), $C_{BloodArterial}$ the concentration in the arterial blood (mg/L), C_{Cpt} the concentration in the compartment Cpt (mg/L), Q_{Cpt} the blood flow entering in the compartment Cpt (L/min), PC_{Cpt} the Cpt:blood partition coefficient (unitless), and the rates of metabolism and excretion RoM_{Cpt} and RoE_{Cpt} in mg/min (see below for the description of metabolism and excretion processes). The transfer of contaminants from blood to the tissues is modeled using an equilibrium factor, the partition coefficient (PC_{Cpt}) that is defined as the ratio of the concentration in a tissue to the concentration in blood. In Equation (7), the concentration of contaminant leaving the compartment is given by the concentration in the compartment over the partition coefficient. In the cases where the chemical binds to red blood cells (for example for lead), this term of Equation (7) becomes [5]:

$$\frac{dC_{pt}(t)}{dt} = Q_{Cpt} \times \left(\frac{C_{BloodArterial}(t)}{PC_{Cpt}} \times \left(0.55 + 0.45 \times \left(1 + \frac{BIND}{KBIND + PC_{Cpt}} \right) \right) - C_{Cpt}(t) \right) - RoM_{Cpt}(t) - RoE_{Cpt}(t) \quad (8)$$

where BIND (in mg/L) is the maximum capacity of erythrocytes to bind the contaminant, and KBIND (in mg/L) is the half-saturation constant.

Differential equation for lungs

Because lungs receive the total blood flow, the equation is given by:

$$\frac{dLungs(t)}{dt} = Q_C \times \left(C_{Alveolar}(t) - \frac{C_{Lungs}(t)}{PC_{Lungs}} \right) - RoM_{Lungs}(t) - RoE_{Lungs}(t) \quad (9)$$

where Lungs is the amount in lungs (mg), Q_C the cardiac output (total blood flow) (L/min), $C_{Alveolar}$ the concentration in the alveolar space (mg/L), C_{Lungs} the concentration in the lungs (mg/L), PC_{Lungs} the lungs:blood partition coefficient (unitless), and the rates of metabolism and excretion RoM_{Lungs} and RoE_{Lungs} (in mg/min).

Differential equation for liver

The liver has two blood supplies, the hepatic portal vein and the hepatic artery. The hepatic artery carries blood from the aorta and the portal vein from the gastrointestinal tract, the spleen and the pancreas. The differential equation for the amount in liver is:

$$\begin{aligned} \frac{dLiver(t)}{dt} = & Q_{Liver} \times C_{BloodArterial}(t) + Q_{Stomach} \times \frac{C_{Stomach}(t)}{PC_{Stomach}} + Q_{Spleen} \times \frac{C_{Spleen}(t)}{PC_{Spleen}} + Q_{Pancreas} \times \frac{C_{Pancreas}(t)}{PC_{Pancreas}} + Q_{Gut} \times \frac{C_{Gut}(t)}{PC_{Gut}} \\ & - (Q_{Liver} + Q_{Stomach} + Q_{Spleen} + Q_{Pancreas} + Q_{Gut}) \times \frac{C_{Liver}(t)}{PC_{Liver}} \\ & - RoM_{Liver}(t) - RoE_{Liver}(t) - Ke_{Bile} \times Liver(t) \\ & + Ingestion_skipGIT \end{aligned} \quad (10)$$

The notations used are: Liver the amount in the liver (mg), $C_{BloodArterial}$ the concentration in the arterial blood (mg/L), C_{Cpt} the concentration in the compartment Cpt (mg/L), Q_{Cpt} the blood flow entering in the compartment Cpt (L/min), PC_{Cpt} the Cpt:blood partition coefficient (unitless), RoM_{Liver} a transfer describing the metabolism in the compartment (mg/min), RoE_{Liver} a transfer describing the excretion in the compartment (mg/min), Ke_{bile} is the biliary excretion rate (min⁻¹), $Ingestion_skipGIT$ is an intake of contaminant as a direct input in the liver (mg/min).

The first line of the equation (10) corresponds to the entry of contaminant in the liver from the arterial blood, the stomach, the spleen, the pancreas and the gut. The second line corresponds

to the amount of contaminant that leaves the liver to reach the venous blood. In the liver the contaminant can be metabolized ($\text{RoM}_{\text{Liver}}$), excreted ($\text{RoE}_{\text{Liver}}$) or excreted *via* bile in the gut

lumen. An intake is also modeled directly in the liver in order to skip the description of the absorption through the gastro-intestinal tract (Ingestion_skipGIT).

The intake Ingestion_skipGIT is null if the ingestion *via* the gastro-intestinal tract is considered, otherwise it is given by:

$$\text{Ingestion_skipGIT} = \text{Abs}_{\text{ingestion}} \times Q_{\text{ing,rate}}(t) \quad (11)$$

Where $\text{Abs}_{\text{ingestion}}$ is the fraction of contaminant absorbed *via* ingestion (unitless), $Q_{\text{ing,rate}}$ is the rate at which the contaminant is ingested (mg/min). The fraction of contaminant absorbed *via* ingestion ($\text{Abs}_{\text{ingestion}}$) was defined to control the quantity of contaminant that is absorbed by ingestion (*via* the gastro-intestinal tract or modelled as a direct input in the liver). This fraction was introduced to take into account mechanisms that may not be well described for some contaminants between an intake and the subsequent concentrations in the body.

Differential equations for blood

The blood is represented in the model by two compartments: the arterial and venous blood. Arterial and venous blood are not modeled as compartments for tissues since the whole blood flow passes through these compartments: the arterial blood is distributed into all tissue compartments and the venous blood collects blood at the exit of most of the tissue compartments. The equation for arterial blood is then:

$$\frac{d\text{ArterialBlood}(t)}{dt} = Q_c \times \left(\frac{C_{\text{Lungs}}(t)}{\text{PC}_{\text{Lungs}}} - C_{\text{ArterialBlood}}(t) \right) - \text{RoM}_{\text{ArterialBlood}}(t) - \text{RoE}_{\text{ArterialBlood}}(t) \quad (12)$$

where ArterialBlood is the amount in the arterial blood (mg), $C_{\text{ArterialBlood}}$ the concentration in the arterial blood (mg/L), C_{Lungs} the concentration in the lungs (mg/L), Q_c the cardiac output (total blood flow) (L/min), PC_{Lungs} the lungs:blood partition coefficient (unitless), and the rates of metabolism and excretion $\text{RoM}_{\text{ArterialBlood}}$ and $\text{RoE}_{\text{ArterialBlood}}$ (in mg/min).

The equation for venous blood is:

$$\frac{d\text{VenousBlood}(t)}{dt} = \sum_{\text{Cpt}} Q_{\text{Cpt}} \times \frac{C_{\text{Cpt}}(t)}{\text{PC}_{\text{Cpt}}} + (Q_{\text{Liver}} + Q_{\text{Gut}} + Q_{\text{Pancreas}} + Q_{\text{Spleen}} + Q_{\text{Stomach}}) \times \frac{C_{\text{Liver}}(t)}{\text{PC}_{\text{Liver}}} - Q_c \times C_{\text{VenousBlood}}(t) - \text{RoM}_{\text{VenousBlood}}(t) - \text{RoE}_{\text{VenousBlood}}(t) \quad (13)$$

where Cpt designates the following compartments: adipose, adrenal, bone, brain, breast, heart,

kidney, marrow, muscle, sexual organs, skin, thyroid, and urinary tract (in mg); VenousBlood

the amount in the venous blood (mg); $C_{\text{BloodVenous}}$ the concentration in the venous blood (mg/L); C_{Cpt} the concentration in the compartment Cpt (mg/L); Q_C the cardiac output (total blood flow) (L/min); Q_{Cpt} the blood flow entering in the compartment Cpt (L/min); PC_{Cpt} the Cpt: blood partition coefficient (unitless); and the rates of metabolism and excretion $RoM_{\text{VenousBlood}}$ and $RoE_{\text{VenousBlood}}$ (in mg/min).

Metabolism

Xenobiotic metabolism is the irreversible transformation of a parent compound into metabolites by enzymatic reactions. Nearly all metabolic transformations result in more polar products than the parent compound to facilitate the removal from the organism (excretion in bile or urine). Metabolism reactions are generally grouped into two phases. Phase I metabolism includes oxidation, reduction, hydrolysis, and hydration reactions. Phase II reactions use an endogenous compound, such as glucuronic acid, glutathione, or sulfate, for conjugation to the compound or its phase I-derived metabolite. The liver is the major site of metabolism for most compounds although metabolism can take place in many organs/tissues (gut, lungs, kidneys, *etc.*). In our PBPK model, metabolism can occur in all compartments except in the gut and stomach lumen and in the alveolar space. Two equations are proposed to model metabolism either as a saturable (Michaelis-Menten equation) or a linear process (a first order reaction). The linear model assumes that the rate of metabolism is proportional to the rate of change of the concentration of the contaminant in the organ. The saturable Michaelis-Menten reaction implies that the reaction is essentially first order at low concentrations of the compound, and it approaches zero order after a certain high concentration. The rate of metabolism in the compartment Cpt is given by the sum of these two equations:

$$RoM(t) = CL_{Cpt} \times ContentMainCYP \times C_{Cpt}(t) + \frac{Vmax_{Cpt} \times ContentMainCYP \times C_{Cpt}(t)}{Km_{Cpt} + C_{Cpt}(t)} \quad (14)$$

Where C_{Cpt} is the concentration in the compartment Cpt (mg/L), CL_{Cpt} the clearance of the first order metabolic reaction (L/min), $ContentMainCYP$ the activity of the main cytochrome P450 involved in the metabolic reaction as a function of the age of the individual (unitless), $Vmax_{\text{CPT}}$ the maximum velocity of the metabolic reaction in the compartment Cpt (mg/min), Km_{Cpt} the Michaelis constant of the metabolic reaction in the compartment Cpt (mg/L).

First order reaction

The clearance is the rate at which a substance is removed or cleared from an organ or the body

by metabolism. The clearance is specific to each contaminant and to each species. The clearance

(CL in L/min) was assumed to depend on the bodyweight of the individual and was calculated as the product of the clearance per kg of BDW (CLperBDW in L/min/kg of BDW) by the bodyweight (BDW).

Michaelis-Menten reaction

The maximum velocity (Vmax in mg/min) and the Michaelis constant (Km in mg/L) are the parameters of the Michaelis-Menten equation (second term of Equation (14)). Vmax represents the maximum rate achieved by the reaction at maximum (saturating) substrate concentrations and is expressed as amount of product (*i.e.*, metabolites) formed per time (here mg/min). Km is defined as the substrate concentration at which the reaction rate is half of Vmax and is an inverse measure of the affinity of the contaminant for the enzymes (a small Km indicates a high affinity). In the PBPK model, metabolism was assumed to be dependent of the age and the bodyweight of the individual. Then the maximum velocity of the metabolic reaction per kg of bodyweight (VmaxperBDW in mg/min/kg of BDW) was introduced and used to compute the maximum velocity (Vmax) together with the bodyweight (BDW).

The parameters Vmax and Km are specific to contaminants and species. Several methods are available to determine them: *in vitro* experiments using tissues of the species of interest (here, humans), *in vivo* experiments (when available) or QSAR models. Several *in vitro* experiments can be used to estimate Vmax and will provide estimates with different units. The most widely used *in vitro* experiments for determining Vmax are cells, subcellular fractions of tissues, tissues slices or recombinant enzymes [6]. For each type of experiments, the extrapolation of the Vmax estimated *in vitro* into an *in vivo* Vmax value is different.

In experiments using microsomes, the *in vitro* Vmax values are usually expressed per amount of microsomal proteins. For a tissue, the *in vivo* Vmax value is given by:

$$V_{\text{max}_{\text{vivo}}}(\text{nmol/min/kg of BDW}) = V_{\text{max}_{\text{micro}}}(\text{nmol/min/mg MSP}) \times \text{MPPGT}(\text{mg MSP/g tissue}) \times V_{\text{Tissue}}(\text{g}) / \text{BDW}(\text{kg}) \quad (15)$$

where Vmax_{micro} is the maximum velocity estimated using microsomes, MPPGT the content of microsomal protein (MSP) per gram of tissue, V_{Tissue} the volume of the tissue and BDW the bodyweight. The contents of microsomal proteins in the metabolizing tissues can be found in the literature [7].

In case of experiments with hepatocytes, the *in vivo* Vmax will be obtained as follow:

$$V_{\text{max}_{\text{vivo}}}(\text{nmol/min/kg of BDW}) = V_{\text{max}_{\text{hep}}}(\text{nmol/min/# of cells}) \times \text{HPGL}(\text{\# of cells/g liver}) \times V_{\text{Liver}}(\text{g}) / \text{BDW}(\text{kg}) \quad (16)$$

where V_{maxhep} is the maximum velocity estimated *in vitro* with hepatocytes, $HPGL$ is the number of hepatocytes per gram of liver, V_{Liver} is the volume of the liver and BDW is the bodyweight. The number of cells in the metabolizing tissues can be found in the literature. For the liver, a value of 99×10^6 cells/g of liver is widely used (95% CI: $74\text{--}131 \times 10^6$ cells/g of liver) [7]. Usually it will also be necessary to divide by the molar mass to convert the $V_{\text{maxperBDW}}$ value in mg and not in mol.

Unlike V_{max} , the units of K_m for *in vitro* or *in vivo* experiments are the same (mol/L or mg/L) so scaling is not required (except the molar mass if the *in vitro* K_m is given in mol/L).

Excretion

Excretion of a compound refers to the removal of the compound and its metabolites from the body. For most compounds, excretion occurs predominantly *via* the kidneys in urine. Some compounds and their metabolites can also be extensively excreted in the bile and often undergo some degree of reabsorption along the intestine (enterohepatic circulation). Excretion can also happen *via* saliva, sweat, lungs and breast milk for nursing mothers. In our PBPK model, excretion can occur in all organs/compartments except in the gut and stomach lumen and in the alveolar space and is described by a first-order reaction. This model assumes that the rate of excretion is proportional to the rate of change of the amount of the contaminant in the organ. Contaminants excreted by bile enter in the gut lumen and can be reabsorbed. The rate of excretion (in mg/min) is given by:

$$RoE(t) = K_{\text{ex}_{\text{Cpt}}} \times C_{\text{pt}}(t) \quad (17)$$

where C_{pt} is the amount in the compartment C_{pt} (mg), and $K_{\text{ex}_{\text{Cpt}}}$ the excretion rate in the compartment C_{pt} (min⁻¹). In kidneys, the excretion is assumed to occur *via* urine. Similarly to metabolism, the excretion rate $K_{\text{ex}_{\text{Cpt}}}$ was age and bodyweight-dependent. A parameter corresponding to the excretion rate per kg of bodyweight (K_{experBDW}) was introduced to compute $K_{\text{ex}_{\text{Cpt}}}$.

Two other excretion routes were modeled: the biliary excretion and the excretion in faeces. The biliary excretion is the transfer of contaminants from the liver to the bile through the hepatocytes and is given by:

$$\frac{dBile(t)}{dt} = K_{e_{\text{Bile}}} \times \text{Liver}(t) \quad (18)$$

with K_{bile} the biliary excretion rate (min^{-1}) and Liver the amount in the liver (mg). The excretion in the feces (mg) takes place in the gut lumen and is given by:

$$\frac{d\text{Faeces}(t)}{dt} = K_{\text{gut2faeces}} \times C_{\text{GutLumen}}(t) \quad (19)$$

where C_{GutLumen} is the concentration in the gut lumen (mg/L), $K_{\text{gut2faeces}}$ the rate constant for the excretion in faeces (L/min).

Anatomy and physiology of the individual

The anatomy and physiology of an individual evolves from birth to elderly. Such evolutions can be integrated in PBPK models using mathematical relationships as function of age for the PBPK parameters. Four types of equations were used to describe the changes related to age: the Preece–Baines model, the von Bertalanffy equation, a sigmoid function and a polynomial function. The Preece–Baines model is a family of curves that conforms to the shape of the human growth curve. It combines two different exponential growth phases to represent the gradual growth of infants followed by a faster growth of adolescents, but becoming rapidly asymptotic. In the von Bertalanffy model, growth is the fastest at the outset, gradually diminishes, and finally reaches zero. In the sigmoid or logistic function, the initial stage of growth is approximately exponential, slows and stops (to reach saturation). If none of the von Bertalanffy or the sigmoid models fitted the data correctly, a polynomial function was used. For few parameters, it has not been possible to define a single function for the lifetime, so several functions were used on different time ranges.

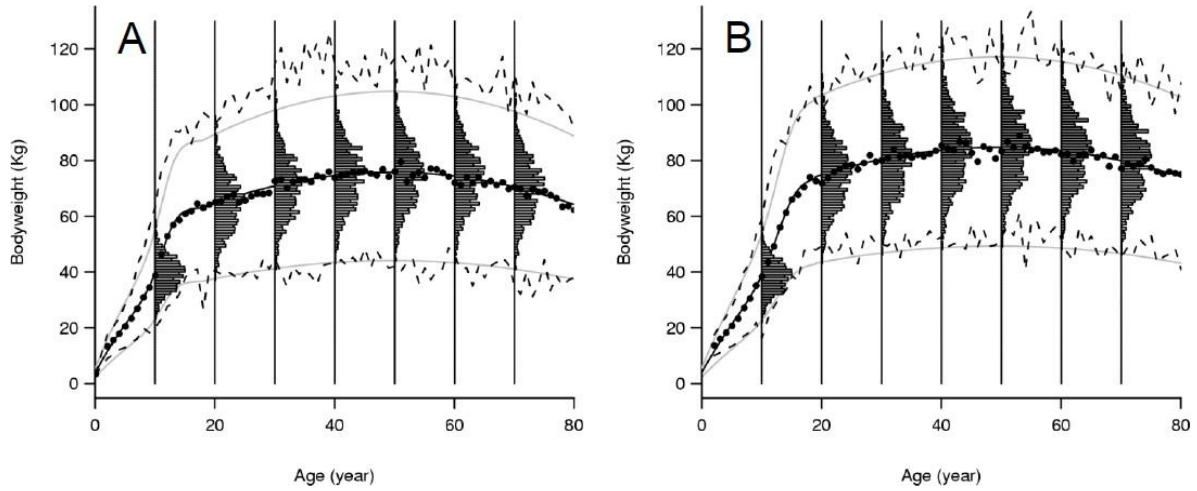


Figure 2: Time evolution of the bodyweight in women (A) and men (B). At several ages, the inter-individual variability is represented with histograms. The filled circles are the median of the bodyweights observed per class of age (the range is one year), and the dotted lines are the minimum and the maximum bodyweight observed at age class.

Bodyweight and volumes

The bodyweight model is a combination of the Preece-Baines model during childhood and adolescence and then a polynomial function of order 2 that describes the modifications in adulthood (increase of the adipose tissues volume and skeletal muscle atrophy in elderly people). Aging atrophy of the muscle begins around 24 years old and thereafter accelerates, and the adipose volume starts to increase around age 20. The bodyweight model was calibrated with the data obtained in the NHANES study [8] by minimizing the least squared error (Figure 2) and is given by for men:

$$BDW_{Total} = \begin{cases} 75.2066 - \frac{2.0 \cdot (75.2066 - 55.9612)}{(e^{(0.5524 \cdot (Age - 13.0920))} + e^{(0.0439 \cdot (Age - 13.0920))})} & \text{if Age} < 18.5 \\ -0.0116 \times Age^2 + 1.1510 \times Age + 56.0646 & \text{if Age} \geq 18.5 \end{cases} \quad (20)$$

and for women:

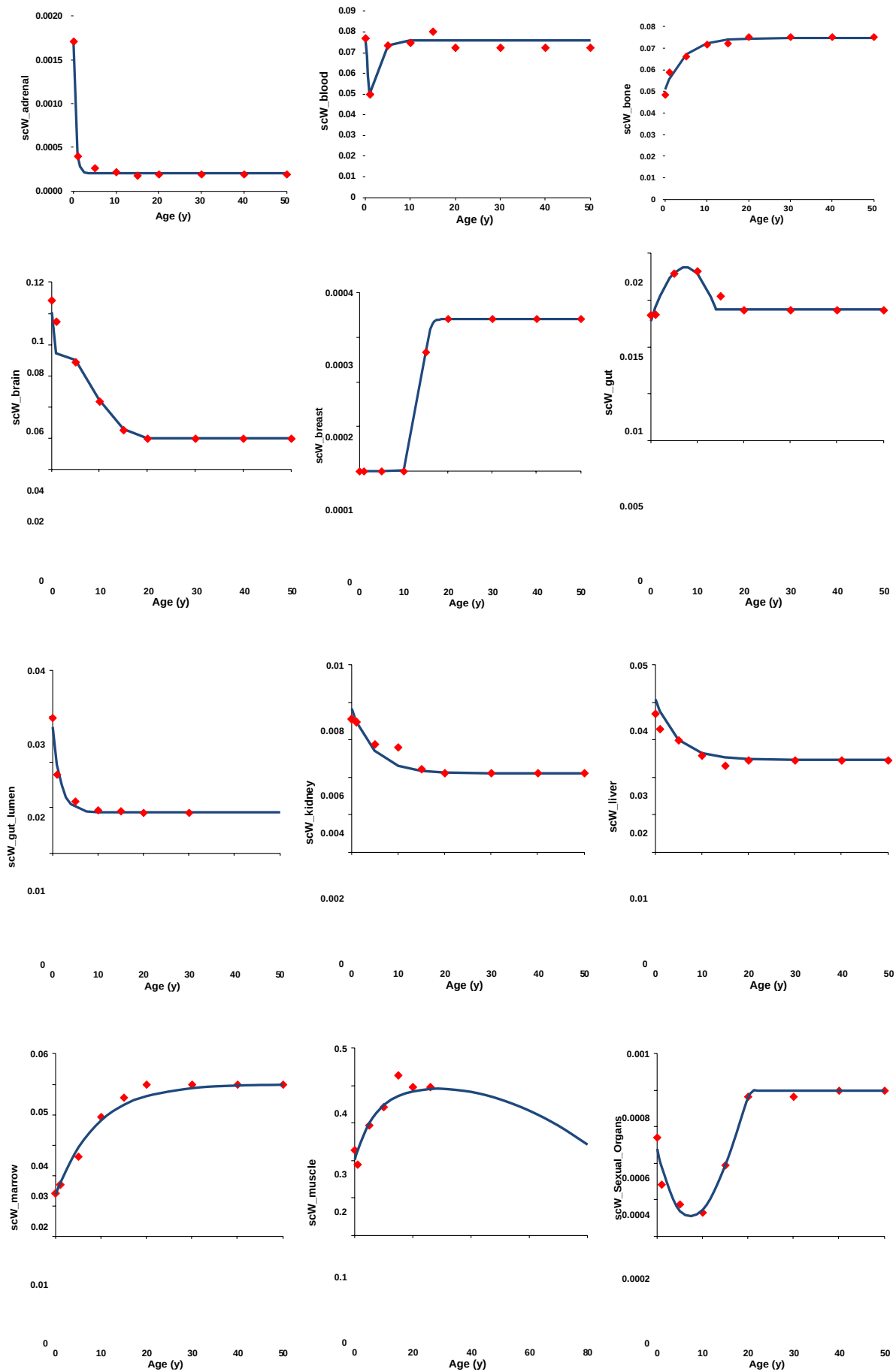
$$BDW_{Total} = \begin{cases} 62.9549 - \frac{2.0 \cdot (62.9549 - 49.3657)}{(e^{(0.8404 \cdot (Age - 11.5669))} + e^{(0.0671 \cdot (Age - 11.5669))})} & \text{if Age} < 17.9 \\ -0.0126 \times Age^2 + 1.2503 \times Age + 44.4459 & \text{if Age} \geq 17.9 \end{cases} \quad (21)$$

Table 1: Equations for the relative organ weights (scW) for men.

Compartment	Equation	
Adrenals	$2.0E-4+(0.00171-2.0E-4)\times\exp(-2.02\times\text{Age})$	
Blood	$-0.0273\times\text{Age}+0.0771$	Age<1
	$0.0761+(0.0289-0.0761)\times\exp(-0.5923\times\text{Age})$	Age≥1
Blood Arterial	$0.25 \times \text{scW}[\text{Blood}]$	
Blood Venous	$0.75 \times \text{scW}[\text{Blood}]$	
Bones	$0.07492+(0.05283-0.07492)\times\exp(-0.13317\times\text{Age})$	
Bones NP	$0.0938-(0.07492+(0.05283-0.07492)\times\exp(-0.13317\times\text{Age}))$	
Brain	$(1.45+(0.353-1.45)\times\exp(-0.44\times\text{Age}))/\text{BDW}_{\text{NoVarAdult}}$	
Breast	$0.000342/(1.0+\exp(-1.42\times\text{Age}+20.1))$	
Gut	$-0.000103\times\text{Age}^2+0.00154\times\text{Age}+0.0128$	Age<14.1
	0.014	Age≥14.1
Gut Lumen	$0.0089+(0.0276-0.0089)\times\exp(-0.574\times\text{Age})$	
Heart	0.0045	
Kidneys	$0.0042+(0.00767-0.0042)\times\exp(-0.206\times\text{Age})$	
Liver	$0.0247+(0.0409-0.0247)\times\exp(-0.218\times\text{Age})$	
Lungs	0.0068	
Marrow	$0.05+(0.0138-0.05)\times\exp(-0.112\times\text{Age})$	
Muscle	$0.3973+(0.201-0.3973)\times\exp(-0.141\times\text{Age})$	Age<25.9
	$(0.3973+(0.201-0.3973)\times\exp(-0.141\times\text{Age}))\times(-0.000126\times\text{Age}^2+0.00613\times\text{Age}+0.926)$	Age≥25.9
Pancreas	0.00192	
Sexual Organs	$-1.52E-7\times\text{Age}^3+9.33E-6\times\text{Age}^2-1.12E-4\times\text{Age}+4.80E-4$	Age<20.4
	8.0E-4	Age≥20.4
Skin	$-1.17E-5\times\text{Age}^3+5.41E-4\times\text{Age}^2-0.0062\times\text{Age}+0.046$	Age<20.0
	0.0452	Age≥20.0
Spleen	0.0021	
Stomach	0.0021	
Stomach Lumen	$0.0034+(0.0105-0.0034)\times\exp(-0.522\times\text{Age})$	
Thyroid	0.000274	
Urinary Tract	0.00104	

Table 2: Equations for the relative organ weights (scW) for women.

Compartment	Equation	
Adrenals	$2.2E-4+(0.00171-2.2E-4)\times\exp(-2.02\times\text{Age})$	
Blood	$-0.0273\times\text{Age}+0.0771$	Age<1.0
	$3.28E-5\times\text{Age}^3-1.21E-3\times\text{Age}^2+1.24E-2\times\text{Age}+0.039$	Age≤14.0
	0.065	Age>20.0
Blood Arterial	$0.25 \times \text{scW}[\text{Blood}]$	
Blood Venous	$0.75 \times \text{scW}[\text{Blood}]$	
Bones	$0.0679+(0.0487-0.0679)\times\exp(-0.7433\times\text{Age})$	
Bones NP	$0.085-(0.0679+(0.0487-0.0679)\times\exp(-0.7433\times\text{Age}))$	
Brain	$0.0206+(0.1091-0.0206) \times\exp(-0.1644\times\text{Age})$	
Breast	$0.008329/(1.0+\exp(-1.69\times\text{Age} +25.11))$	
Gut	$-7.421E-5\times\text{Age}^2+1.276E-3\times\text{Age} + 0.01230$	Age<14.4
	0.016	Age≥14.4
Gut Lumen	$0.0100+(0.0294-0.0100)\times\exp(-0.932\times\text{Age})$	
Heart	0.0042	
Kidneys	$0.0046+(0.0071-0.0046)\times\exp(-0.221\times\text{Age})$	
Liver	$0.0231+(0.0362-0.0231)\times\exp(-0.153\times\text{Age})$	
Lungs	0.0070	
Marrow	$0.045+(0.0138-0.045)\times\exp(-0.136\times\text{Age})$	
Muscle	$0.2917+(0.207-0.2917)\times\exp(-0.339\times\text{Age})$	Age<25.9
	$(0.2917+(0.207-0.2917)\times\exp(-0.339\times\text{Age}))\times(-0.000126\times\text{Age}^2+0.00613\times\text{Age}+0.926)$	Age≥25.9
Pancreas	0.0020	
Sexual Organs	$-0.0011\times\text{Age}+0.0013$	Age≤1
	$2.64E-7\times\text{Age}^3-1.79E-6\times\text{Age}^2-5.65E-6\times\text{Age} +2.81E-4$	Age<20.4
	0.0015	Age≥20.4
Skin	$-7.89E-6\times\text{Age}^3+4.02E-4\times\text{Age}^2-0.0052\times\text{Age} +0.046$	Age<20.0
	0.0383	Age≥20.0
Spleen	0.0022	
Stomach	0.0023	
Stomach Lumen	$0.0038+(0.013-0.0038)\times\exp(-0.882\times\text{Age})$	
Thyroid	0.00028	
Urinary Tract	0.00097	



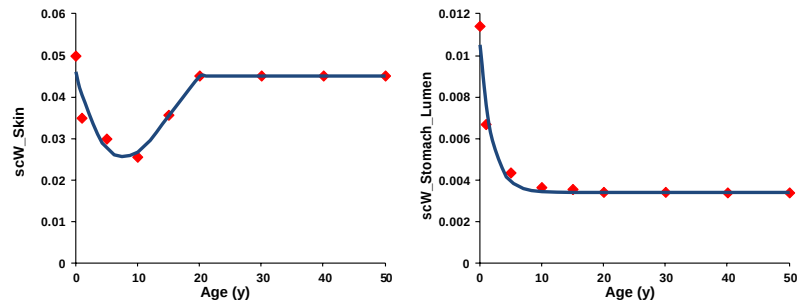
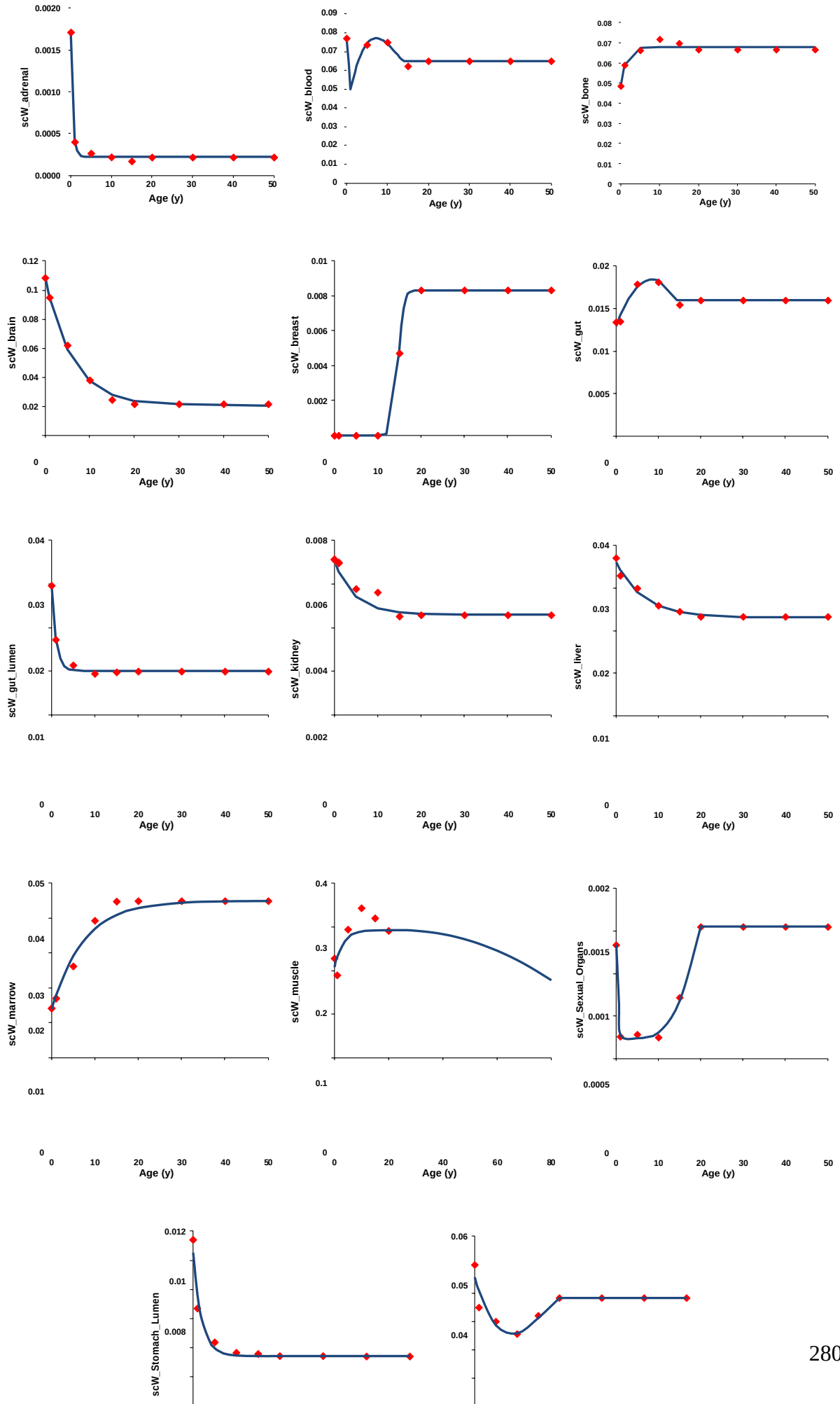


Figure 3: Fit of the models for the relative weights of organs/tissues to experimental data in men [25-27].



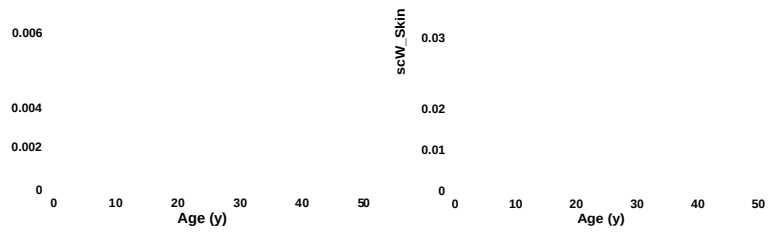


Figure 4: Fit of the models for the relative weights of organs/tissues to experimental data in women [25-27].

The volumes of the compartments (V in L) evolve during lifetime and are calculated as a function of the relative weight of organs as a fraction of the bodyweight (scW), the bodyweight of the individual without the adipose volume variations (first terms in Equation (20) and Equation (21)) and the organ density. The density of organs was assumed to be 1 kg/L for all organs/tissues except for adipose tissues (0.9 kg/L) and bones (2 kg/L). For all compartments (but adipose tissues), the volume of the compartments (V) was then given by:

$$V = \frac{scW \times BDW_{NoVarAdult}}{DensityOrgan} \quad (22)$$

For adipose tissues, the equation includes the increase of the weight in adulthood:

$$V_{Adipose} = \begin{cases} \frac{scW \times BDW_{NoVarAdult}}{DensityOrgan} & \text{if Age} \leq 18.5 \\ \frac{(BDW_{Total} - BDW_{NoVarAdult}) + scW_{Adipose} \times BDW_{NoVarAdult}}{DensityOrgan} & \text{if Age} > 18.5 \end{cases} \quad (23)$$

The relative weights (scW) can be constant over the lifetime or can evolve during the growth (for example, the relative weight of the brain is greater in newborns than in adults). These latter are expressed as a function of age and are presented in Table 1 and Table 2 for men and women respectively. Values reported by several publications were used to derive the equations [9-11]. The adjustment of these equations to the experimental data is displayed Figure 3 and Figure 4. To ensure that the sum of the compartment volumes does not exceed the bodyweight, the relative weight of adipose tissues was calculated as follows:

$$scW_{Adipose} = 0.96 - \sum_{i \neq Adipose} scW_i \quad (24)$$

4% of the bodyweight is not included as it corresponds to non-perfused tissues (non-perfused bones are a compartment of the PBPK model).

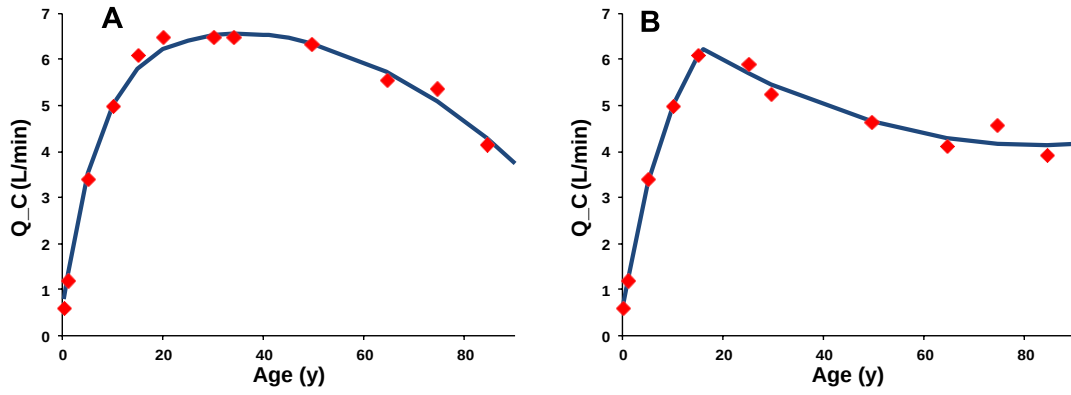


Figure 5: Fit of the model for the cardiac output to experimental data for men (panel A) and for women (panel B) [10,12].

Table 3: Relative blood flows (scQ_{adult}) in adult men and women

Organ	Man	Woman	Organ	Man	Woman	Organ	Man	Woman
Adipose	0.052	0.087	Kidneys	0.196	0.175	Skin	0.052	0.051
Adrenals	0.003	0.003	Liver (arterial)	0.067	0.067	Spleen	0.031	0.031
Bones	0.021	0.021	Lungs	0.026	0.026	Stomach	0.010	0.010
Brain	0.124	0.124	Marrow	0.031	0.031	Thyroid	0.015	0.015
Breast	0.0002	0.004	Muscle	0.175	0.124	UrinaryTract	0.001	0.001
Gut	0.144	0.165	Pancreas	0.010	0.010			
Heart	0.041	0.051	Sexual organs	0.001	0.004			

Blood flows

The evolution of the cardiac output (in L/min) is described by a rapid increase from birth to adulthood, and then by a decrease modeling the effects of aging [10,12]. The equation for men is:

$$Q_c = \begin{cases} 6.642 + (0.6 - 6.642) \times \exp(-0.1323 \times \text{Age}) & \text{if Age} < 33.4 \\ -8.95E-4 \times \text{Age}^2 + 0.0607 \times \text{Age} + 5.54 & \text{if Age} \geq 33.4 \end{cases} \quad (25)$$

and for women is:

$$Q_c = \begin{cases} 7.734 + (0.6 - 7.734) \times \exp(-0.09747 \times \text{Age}) & \text{if Age} < 16.0 \\ 4.73E-4 \times \text{Age}^2 - 0.0782 \times \text{Age} + 7.37 & \text{if Age} \geq 16.0 \end{cases} \quad (26)$$

The adjustment of these equations to the experimental data is displayed Figure 5. The relative blood flows are scaling factors used to compute the blood flow entering in an organ/tissue according to the cardiac output. The scaling factors for the tissular blood flow in adults were

computed using the data collected by ICRP [10]. The values reported here are not exactly the

same as proposed in ICRP because the sum of the flows was not equal to 1. Therefore we multiplied the flows by a factor 1.03. Table 3 presents the numerical values for men and women respectively.

Due to the lack of data on blood flow changes with age, regional blood flows were assumed to change proportionally to tissue volumes, as proposed by Clewell *et al.* [13]. The scaling factors for the blood flows (scQ) then depend on the ratio of the compartment volume at time t and over the volume during adulthood:

$$scQ = \frac{scW}{scW_{adult}} \times scQ_{adult} \quad (27)$$

A variable corresponding to the sum of the relative blood flows (sum_scQ) was created to ensure that the relative blood flows sum up to 1. The blood flows were given by:

$$Q = \frac{scQ}{sum_scQ} \times Q_c \quad (28)$$

Respiratory functions

In order to model the gas exchanges throughout the lifetime of the individual, parameters related to the inhalation or exhalation of contaminants were described using time functions. Values reported by the ICRP [10] for the activity “sitting awake” were used to derive these functions. The tidal volume (V_{Tidal} in L) is the volume of air that moves in or out of the lungs in one normal breath. The tidal volume increases with age and is given by for men and women respectively:

$$V_{Tidal} = \begin{cases} 0.0337 \times Age + 0.0407 & \text{if Age} < 21.0 \\ 0.75 & \text{if Age} \geq 21.0 \end{cases} \quad (29)$$

$$V_{Tidal} = 0.46 + (0.0392 - 0.46) \times \exp(-0.127 \times Age) \quad (30)$$

In lungs, the dead space (V_{DS} in L) is the part of the tidal volume that does not participate in gas exchanges and was given for men and women respectively by:

$$V_{DS} = \begin{cases} 0.0076 \times Age + 0.0101 & \text{if Age} < 18.4 \\ 0.15 & \text{if Age} \geq 18.4 \end{cases} \quad (31)$$

$$V_{ds} = \begin{cases} 0.0065 \times \text{Age} + 0.0131 & \text{if Age} < 16.4 \\ 0.12 & \text{if Age} \geq 16.4 \end{cases} \quad (32)$$

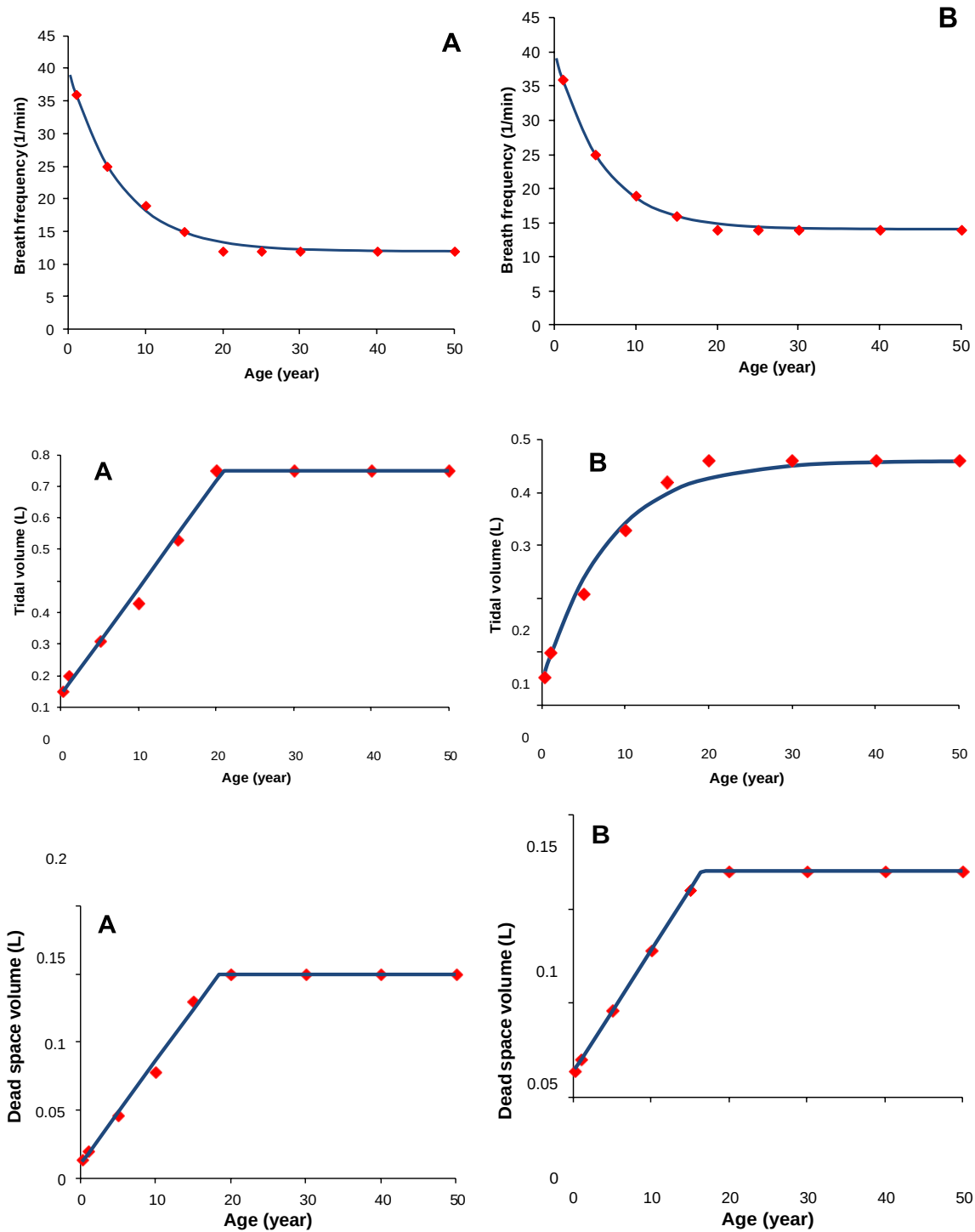


Figure 6. Fit of the model for the breathing frequency, the tidal volume and the dead space volume to experimental data for men (panel A) and for women (panel B) [10].

The alveolar volume (V_A in L) is the part of the tidal volume that participates in gas exchanges. The alveolar volume is computed by subtracting the dead space volume to the tidal volume.

The breathing frequency (or respiratory rate) that is the number of breaths taken within a minute also decreases with age is given by:

$$\text{BreathFreq} = \begin{cases} 12 + (39.94 - 12.00) \times \exp(-0.15 \times \text{Age}) & \text{for men} \\ 14 + (40.2 - 14.0) \times \exp(-0.173 \times \text{Age}) & \text{for women} \end{cases} \quad (33)$$

The adjustments of these equations for the respiratory parameters to the experimental data are displayed Fig. 6. The breathing frequency is used to compute the alveolar ventilation rate (Q_p in L/min) that is the rate of air flow that the gas exchange areas of the lungs encounter during normal breathing. This rate is calculated as a function of the breathing frequency and the alveolar volume:

$$Q_p = V_a \times \text{BreathFreq} \quad (34)$$

Enzyme content in organs

Metabolism was assumed to be dependent on age but not gender. Data on the ontogeny of cytochrome P450 were integrated in the calculation of the metabolic rates to account for the differences in the enzyme activity between children and adults. The relationships between the age and the enzyme expression and activity of several cytochromes P450 derived by Johnson *et al.* [14] were used. Table 4 summarizes these relationships given as fraction of adult cytochrome abundance. The fractions could not exceed 1 and are unitless.

Table 4: Cytochrome P450 activity as a function of the activity in adults[29].

Individual cytochrome P450	Function
CYP1A2	$\min\left(1.0, \frac{\text{Age}^{1.41}}{1.13 + \text{Age}^{1.41}}\right)$
CYP2B6	$\min\left(1.0, \frac{1.07 \times \text{Age}}{1.31 + \text{Age}}\right)$
CYP2C8	$\min\left(1.0, \frac{0.716 \times \text{Age}}{0.02 + \text{Age}} + 0.3\right)$
CYP2C9	$\min\left(1.0, \frac{0.821 \times \text{Age}}{0.01 + \text{Age}} + 0.1\right)$
CYP2D6	$\min\left(1.0, \frac{1.01 \times \text{Age}}{0.101 + \text{Age}} + 0.036\right)$
CYP2E1	$\min\left(1.0, \frac{4.22 \times \text{Age}^{0.27}}{7.66 + \text{Age}^{0.27}}\right)$
CYP3A	$\min\left(1.0, \frac{0.639 \times \text{Age}}{2.36 + \text{Age}} + 0.42\right)$
CYP3A4 / CYP3A5	$\min\left(1.0, \frac{\text{Age}^{0.83}}{0.31 + \text{Age}^{0.83}}\right)$
CYP18 / CYP19	$\min\left(1.0, \frac{0.857 \times \text{Age}}{0.99 + \text{Age}} + 0.3\right)$
Others	1.0

Intestinal transit times

In the PBPK model, the transfer of contaminants in the gastrointestinal tract is governed by two parameters: the transfer of contaminants from the stomach lumen (where the contaminant arrives after ingestion) to the gut lumen (K_{stom2gut}) and the transfer of contaminants from gut to feces ($K_{\text{gut2faeces}}$). These parameters are age- and sex-dependent. Values for the stomach and gut contents, and transit times were reported by ICRP [10] and used to derive the relationships for men and women respectively:

$$K_{\text{stom2gut}} = \begin{cases} 0.006 + (0.0006 - 0.006) \times \exp(-0.073 \times \text{Age}) & \text{for men} \\ 0.004 + (0.0007 - 0.004) \times \exp(-0.129 \times \text{Age}) & \text{for women} \end{cases} \quad (35)$$

$$K_{\text{gut2faeces}} = \begin{cases} 0.000508 + (0.0000709 - 0.000508) \times \exp(-0.0699 \times \text{Age}) & \text{for men} \\ 0.000394 + (0.0000775 - 0.000394) \times \exp(-0.0095 \times \text{Age}) & \text{for women} \end{cases} \quad (36)$$

The adjustments of these equations to the experimental data are displayed Fig. 7.

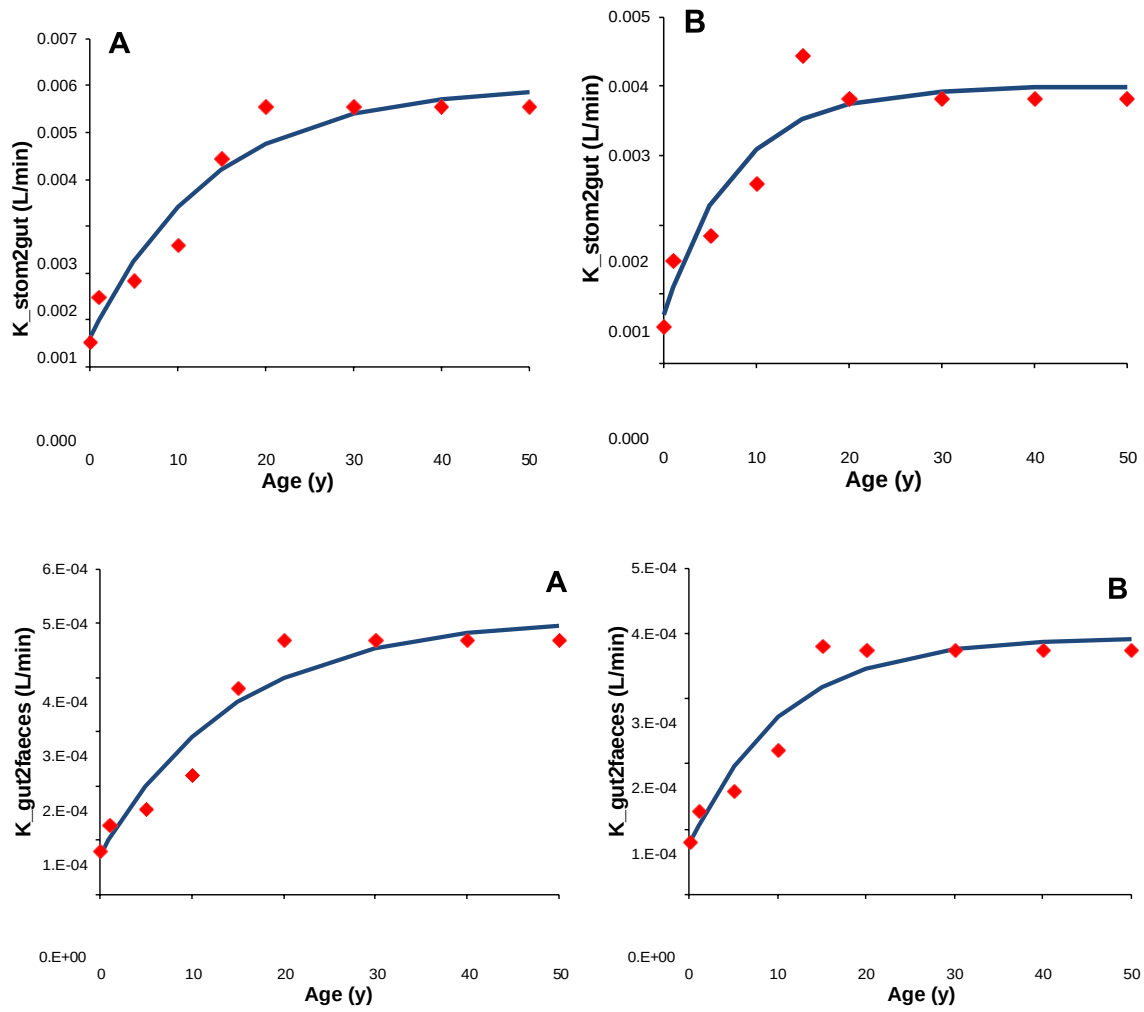


Fig. 7. Fit of the model for the transfer of contaminants from stomach lumen to gut lumen, and from gut lumen to feces to experimental data for men (panel A) and for women (panel B) [10].

Building exposure scenarios with the PBPK model in MERLIN-Expo

The generic PBPK model was implemented in MERLIN-Expo to be used alone or together with multimedia models. This section describes the prerequisites needed to run the model (validity domain, input data), and several features that can be relevant for building realistic exposure scenarios with this model (human variability and links with the environmental models).

Validity domain

All models are valid on a defined domain. Usually the assumptions made during model development help in delineating the domain of validity. Here, the validity domain of the PBPK model is defined by the assumptions made to model the ADME processes and the body evolution over lifetime.

The absorption of contaminants is described using simple models that are reasonable in terms of numbers of parameters. For instance, only two compound-specific parameters are needed for the inhalation process but it can be used only if two conditions are fulfilled: a one directional airflow, and a rapid equilibrium between the air in lungs and the blood in the alveoli. Very short exposures (in the order of the minute) cannot be well described with such a modeling approach and more detailed description of the gas exchanges have to be integrated [15]. For example, the lungs can be described by several compartments representing different regions of the respiratory tract such as the upper respiratory tract, the dead space, the alveolar space, the pulmonary capillaries... Similarly, more sophisticated models than the ones implemented for oral absorption have been proposed in the literature [16,17]. These models describe the different sections of the guts and take into account the regional intestinal pH, transit times from one section to another, the presence of active transporters or enzymes in the region. Such models were first developed to describe the oral absorption of therapeutic drugs including the dissolution phase of the drug and to provide reliable predictions of the compound kinetics in the hours or minutes following the administration. These sophisticated models for inhalation and ingestions are however rarely required for environmental contaminants and the related exposure scenarios for the general population. Such a description is rarely required for environmental contaminants and exposures. It should also be noted that these models require a high number of physiological and compound-dependent parameters that are difficult to inform.

The PBPK model is based on the assumption that the compound is distributed by blood in the various organs or tissues of the body. Chemicals distributed by another transport (*e.g.*, lymph) are then outside the validity domain. The distribution of the contaminants in the compartments

is assumed to be blood flow limited, *i.e.* the compartment is homogenous and well mixed, and the permeability of the contaminants in the cells of the tissues/organs is much greater than the tissue blood flow rate. The assumption of perfusion flow-limited kinetics is justified for small lipophilic drugs that are neither too big nor too hydrophilic to distribute into organs. The assumption that a tissue/organ is a single, well stirred compartment with uniform concentration of the compound within it can fail for compounds whose intracellular concentrations can be different from their extracellular concentrations due to involvements of transporters in their uptake. In this case, the compartment could be divided in several sub-compartments to better describe the physiology of an organ or tissue with a vascular space, an interstitial space and a cellular space [2]. However such a modeling approach is rarely used due to the lack of data to inform the parameters. But the predictions of our model should therefore be taken with caution for such compounds under certain exposure scenarios (short exposures).

The two mathematical functions equations used for metabolism (linear model and Michaelis-Meten equation) cover a wide range of contaminants and exposure scenarios (low and high doses). However these functions are not able to deal with contaminants that inhibit or induce their own metabolism. The PBPK model is therefore not suitable under these situations.

Our model for excretion assumes that the excretion is not a saturable process and is only limited by the perfusion of the organ. In some cases (high excretion rate), this could lead to an apparent saturation pattern. But this is quite rare for environmental exposures.

The physiological and anatomical changes related to age are taken into account using mathematical equations for the parameters of the PBPK model. It is therefore possible to simulate exposure over lifetime as well as over short periods. The PBPK model is able to describe the time evolutions of the physiological and anatomical parameters from birth to elderly. The models for the cardiac output and the bodyweight, two parameters used in the computation of the other physiological and anatomical parameters, were fitted to data obtained in humans aged from 0 to 80 years and 0 to 90 years, respectively. Outside these time ranges, the model predictions for the cardiac output and the bodyweight are inaccurate. Hence, the validity time range of the PBPK model is set between 0 and 80 years old.

In the end, the PBPK model is based on a detailed description of the body anatomy and includes a substantial number of tissue compartments and this structure enables the analysis of toxicokinetics for diverse compounds that induce multiple effects in various target tissues. According to the restrictions presented above, the PBPK model can be used for a majority of

environmental contaminants like volatile organic compounds, pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) or polychlorinated biphenyls (PCB) and various exposure scenario (short, long-term or lifetime exposures).

Inputs required to use the PBPK model

The parameters related to the exposure scenarios have to be informed before running the PBPK model in MERLIN-Expo. This set of parameters corresponds to individual characteristics and the compound-specific parameters. Because the model was built to be flexible and applied to numerous compounds, two models were proposed for the oral absorption and the distribution of the compound and should be selected.

Modeling options

As described in the previous section, the PBPK model includes two models for the oral absorption: a simplified model for the gastro-intestinal tract and a direct input in the liver. In most cases, the user will select the model according to the available information or experimental data (s)he has gathered on the compound absorption. To select the model, a general variable Ingestion was created whose possible affectations are the different options: simplified model, direct input or no absorption.

The second model to be selected concerns the distribution of the compound in blood and its binding capabilities to the red blood cells or erythrocytes. Two modeling options are possible: the compound binds to the erythrocytes (and Equation 8 is applied), the compound does not bind to the erythrocytes or the binding is negligible (and Equation 7 is applied).

Parameters

Table 5 presents the list of parameters to be set before running simulations with the PBPK model. This list is composed of two parameters related to the individual or population, and the others to compound-specific parameters. The individual parameters are the age at the beginning of the exposure or simulation, and the human variability for bodyweight (see section below). The compound-specific parameters are used in the mathematical description of the ADME processes. These parameters are usually determined using *in vivo* controlled studies in humans, *in vivo* laboratory studies on animals, *in vitro* testing or *in silico* tools. It should be noted that the metabolic and excretion rates depend on the bodyweight.

Table 5: PBPK model parameters that have to be informed to run simulations with MERLIN-Expo

Parameter	Abbreviation	Unit	Default value
Age of the individual at the beginning of the simulation	InitialAge	years	0
Inter-individual variability of the bodyweight	BDW _{Variability}	unitless	1
<i>Absorption</i>			
Fraction of contaminant absorbed via ingestion	Abs _{ingestion}	unitless	1
Absorption from stomach lumen to stomach wall	Ka _{stomach}	min ⁻¹	0
Absorption from gut lumen to gut wall	Ka _{gut}	min ⁻¹	0
Fraction of contaminant absorbed via inhalation	Abs _{inhalation}	unitless	0
Blood:Air partition coefficient	PC _{BloodAir}	unitless	1 ⁹⁹
<i>Distribution</i>			
Tissue:blood partition coefficients	PC	unitless	1
Capacity of erythrocytes to bind contaminants	BIND	mg/L	0
Half-saturation constant for blood:plasma partitioning	KBIND	mg/L	1
<i>Metabolism</i>			
Maximum velocity per kg of bodyweight	Vmax _{perBDW}	mg/min/kg	0
Michaelis constant	Km	mg/L	1
Clearance per kg of bodyweight	CL _{perBDW}	L/min/kg	0
Main cytochrome P450 involved in metabolism	MainCYP	unitless	0
<i>Excretion</i>			
Excretion rate per kg of bodyweight	Kex _{perBDW}	min ⁻¹ /kg	0
Biliary excretion rate	Ke _{bile}	min ⁻¹	0

Population scenarios: inter-individual variability

All the parameters of the PBPK model can possibly be affected by inter-individual variability. Numerous factors, as genetic or environmental ones, can explain human variability in toxicokinetics [18-20]. As described in the first section, the PBPK model was parameterized with default values representing an “average” individual. To apply this model in realistic scenarios including specific individual or sensitive populations, some parameter values can be modified and also be set to probability distribution functions representing the range of possible values in a population or individual.

Bodyweight is one of the PBPK parameters that can be easily observed and measured in individuals. As most of the anatomical and physiological parameters are related to it, we then chose to create a parameter related to the bodyweight (BDW_{Variability}) to scale the default average value to the observed one or simulate a random population. For example, the default value for a 20-years old man is about 74 kg. If the bodyweight of the individual of interest was measured at 80 kg at 20 years old, the user can set the value of 1.08 to the parameter BDW_{Variability} to adjust the PBPK model parameters to this individual. A default probability distribution function is proposed for bodyweight. The inter-individual variability for

bodyweight was estimated with the database of the NHANES study gathering the weights of males and females from 2 to 90 years old in United States (National Health and Nutrition Examination Survey, 1995). A normal distribution described well these data with mean the estimated value of bodyweight and a standard deviation corresponding to a CV of 15% for men and women. Figure 1 presents the estimated variability compared to the data. The human inter-individual variability is represented in the form of histograms for several ages. A likelihood based statistical test was used to assess that the predicted distribution of the bodyweight at each age (obtained from the 1000 simulations) does not differ from the observed bodyweight's distribution of the NHANES database. So the probability distribution function used for BDWVariability is a normal distribution with mean 1 and standard deviation 0.15. Because the organ weight is a function of bodyweight, the organ weight variability can be handled by the parameter BDWVariability. Moreover the variability in organ weights was observed to be close to 15% (range between 9% and 16%) that is similar to the bodyweight variability defined above [21,22]. The inter-individual variability related to bodyweight is the sole source of variability in toxicokinetics implemented in MERLIN-Expo but the user can obviously enter probability distribution functions for other parameters.

On the contrary to physiological parameters, the human variability of compound-specific parameters is not well characterized with a notable exception for metabolic parameters [23]. This is probably due to the fact that the compound-specific parameters cannot be measured in humans but have to be estimated using statistical analyses [24,25] or extrapolated from *in vitro* tests or modeling tools [6,26]. This generates uncertainty that is added to the natural variation of the parameters values. For instance, we selected several studies and reported the observed variability for the tissue:blood partition coefficients according to the tissue and not the compound (Table 6). We observed that the coefficients of variation vary from 14% to 31%.

Table 6: Variability (expressed as coefficients of variation) observed in tissue:plasma partition coefficients from several studies.

Tissue	Ref[37]	Ref[38]	Ref[39]	Ref[40]	Ref[41]	Ref[41]	Ref[42]	Ref[43]	Ref[43]	Ref[43]	Ref[44]	Mean
Muscle	27	49	28	29	29	23	16	23	14	10	12	24
Skin	27	-	31	37	-	-	14	-	-	-	-	27
Fat	50	38	18	25	20	14	10	05	52	-	10	24
Liver	07	26	34	-	25	13	09	26	16	11	-	18
Kidneys	38	34	17	13	16	31	10	13	25	37	11	22
Brain	07	22	13	29	17	44	16	08	35	07	-	20
Heart	16	27	16	17	12	34	16	-	-	-	-	20
Lungs	44	33	28	29	16	24	11	-	-	-	-	27
Spleen	-	22	07	-	17	21	10	-	-	-	-	15
Testes	-	28	-	-	18	25	07	-	-	-	-	19
Stomach	-	58	16	-	19	30	-	-	-	-	-	31
Small intestine	-	45	23	-	14	26	17	-	-	-	-	25
Large intestine	-	-	28	-	53	25	-	-	-	-	-	35
Pancreas	-	-	-	-	14	16	13	-	-	-	-	14

Linking the Human Model to Other MERLIN-Expo Models

To perform simulations, the PBPK model needs to be associated to an exposure scenario defining the duration and the magnitude of the exposure. The magnitude is determined by the contamination of the environment (outdoor or indoor) and the ingested food. In the case that the PBPK model is used alone, the concentration inhaled or the quantity ingested rate has to be informed. The model can also be used in more sophisticated exposure scenarios including multimedia environmental models of the MERLIN-Expo library. Most of the environmental, animal or plant models can provide inputs for the PBPK model. These inputs can be formalised as an inhalation rate of contaminated air or as an ingestion rate for contaminated food. Several models can contribute to the calculation of the dietary intake through food (*e.g.* fish, fruit or leaf model) or drinking water (*e.g.* the river model). To integrate several inputs, a module called human intake was developed to sum up the intakes from several sources.

Application of the Human PBPK Model Under Different Exposure Scenarios

In this section, the PBPK model of MERLIN-Expo was applied under several exposure scenarios. Two types of assessment were performed: the predictions of MERLIN-Expo were compared either to actual experimental data or to predictions of models published in the scientific literature.

Lifetime Exposure to Dioxin: A Persistent Compound

Polychlorinated dibenzo-p-dioxin (PCDDs) (also called dioxins), including 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), are persistent environmental contaminants. The main current sources of PCDDs in the environment are combustion processes, such as waste incineration, and metal smelting and refining. Among this chemical class, TCDD is one of the most toxic compounds and is classified as a human carcinogen by IARC. Because the persistence of TCDD in the human body is of the order of many years, continuous exposures might lead in the long run to extremely high body burdens [49].

We used the study of Maruyama *et al.* [50] to benchmark our model for TCDD. In their study, Maruyama *et al.* [50] applied a PBPK model developed for dioxins to predict the concentrations in several tissues and compared their model predictions to experimental data. The data were measured concentrations in blood, fat, liver and richly perfused tissues of Japanese men whose ages range between 20 and 60 years [51, 52]. Because we were interested in a direct comparison of MERLIN-Expo and this model, we used the same parameter values for the exposure scenario and the PBPK model. Only the excretion rate was set to a value provided by Milbrath *et al.* [53] to fit with our parameterisation of this process. As the body weight was set to 60 kg for an adult in Maruyama *et al.* [50], we assigned the value of 0.82 to the parameter body weight variability and defined the probability distribution function as a normal distribution with mean 0.82 and standard deviation 0.12 to perform variability analyses.

The TCDD exposure route was assumed to be solely food ingestion. The daily intake was calculated using concentration data in Japanese food obtained in 1998 and was set to 12.8 pg/day [54]. The values of the PBPK model parameters are reported in Table 7. As in the former study, we assumed that ingested TCDD enters as a direct input in the liver avoiding the first pass effects such as metabolism. The option ‘ingestion *via* the liver’ in MERLIN-Expo was then used.

Table 7: Parameters values of the PBPK model in MERLIN-Expo used for the testing (dioxin, lead and perfluorinated compounds). Default values are indicated in italic.

Parameter	Units	TCDD	Lead	PFOS	PFOA
Age of the individual at the beginning of the simulation	years	0	0	0	0
Inter-individual variability of the bodyweight	unitless	1	1	1	1
<i>Absorption</i>					
Fraction of contaminant absorbed via ingestion	unitless	0.97	0.11	0.9	0.9
Absorption from stomach lumen to stomach wall	min ⁻¹	0	0.	0	0
Absorption from gut lumen to gut wall	min ⁻¹	0	0	0	0
Fraction of contaminant absorbed via inhalation	unitless	0	0.5	0	0
Blood:Air partition coefficient	unitless	1 ⁹⁹	1 ⁹⁹	1 ⁹⁹	1 ⁹⁹
<i>Distribution</i>					
Tissue:blood partition coefficients	unitless				
Adipose		247	20	0.14	0.04
Adrenal		4.1	100	0.2	0.12
Blood		1	1	1	1
Blood_Arterial		1	1	1	1
Blood_Venous		1	1	1	1
Bones		4.1	1,000	0.2	0.12
Bones_NP		1	1	1	1
Brain		4.1	100	0.2	0.12
Breast		17	20	0.2	0.12
Gut		4.1	100	0.57	0.05
Gut_Lumen		1	1	1	1
Heart		4.1	100	0.2	0.12
Kidneys		3.1	100	0.8	1.05
Liver		9.8	100	3.72	2.2
Lungs		4.1	100	0.2	0.12
Marrow		1	100	0.2	0.12
Muscle		17	20	0.2	0.12
Pancreas		4.1	100	0.2	0.12
Sexual_Organs		4.1	100	0.2	0.12
Skin		2.5	20	0.29	0.1
Spleen		4.1	100	0.2	0.12
Stomach		4.1	100	0.2	0.12
Stomach_Lumen		1	1	1	1
Thyroid		4.1	100	0.2	0.12
Urinary_Tract		4.1	100	0.2	0.12
Capacity of erythrocytes to bind contaminants	mg/L	0	2.7	0	0
Half-saturation constant for blood:plasma partitioning	mg/L	1	0.0075	1	1
<i>Metabolism</i>					
Maximum velocity per kg of bodyweight	mg/min/kg	0	0	0	0
Michaelis constant	mg/L	1	1	1	1
Clearance per kg of bodyweight	L/min/kg	0	0	0	0
Main cytochrome P450 involved in metabolism	unitless	0	0	0	0
<i>Excretion</i>					
Excretion rate per kg of bodyweight	min ⁻¹ /kg				
Kidneys		0	4.35×10 ⁻⁶	6.9×10 ⁻⁷	2.1×10 ⁻⁷
Liver		4.26×10 ⁻⁷	1.85×10 ⁻⁶	0	0
Biliary excretion rate	min ⁻¹	0	0	0	0

The predicted concentrations in blood, liver, fat and richly perfused tissues (*i.e.* heart) obtained using MERLIN-Expo are presented in Fig. 8. The average prediction is represented together with the interval of confidence (IC) at 95%. The toxicokinetic profiles were similar in the various organs.

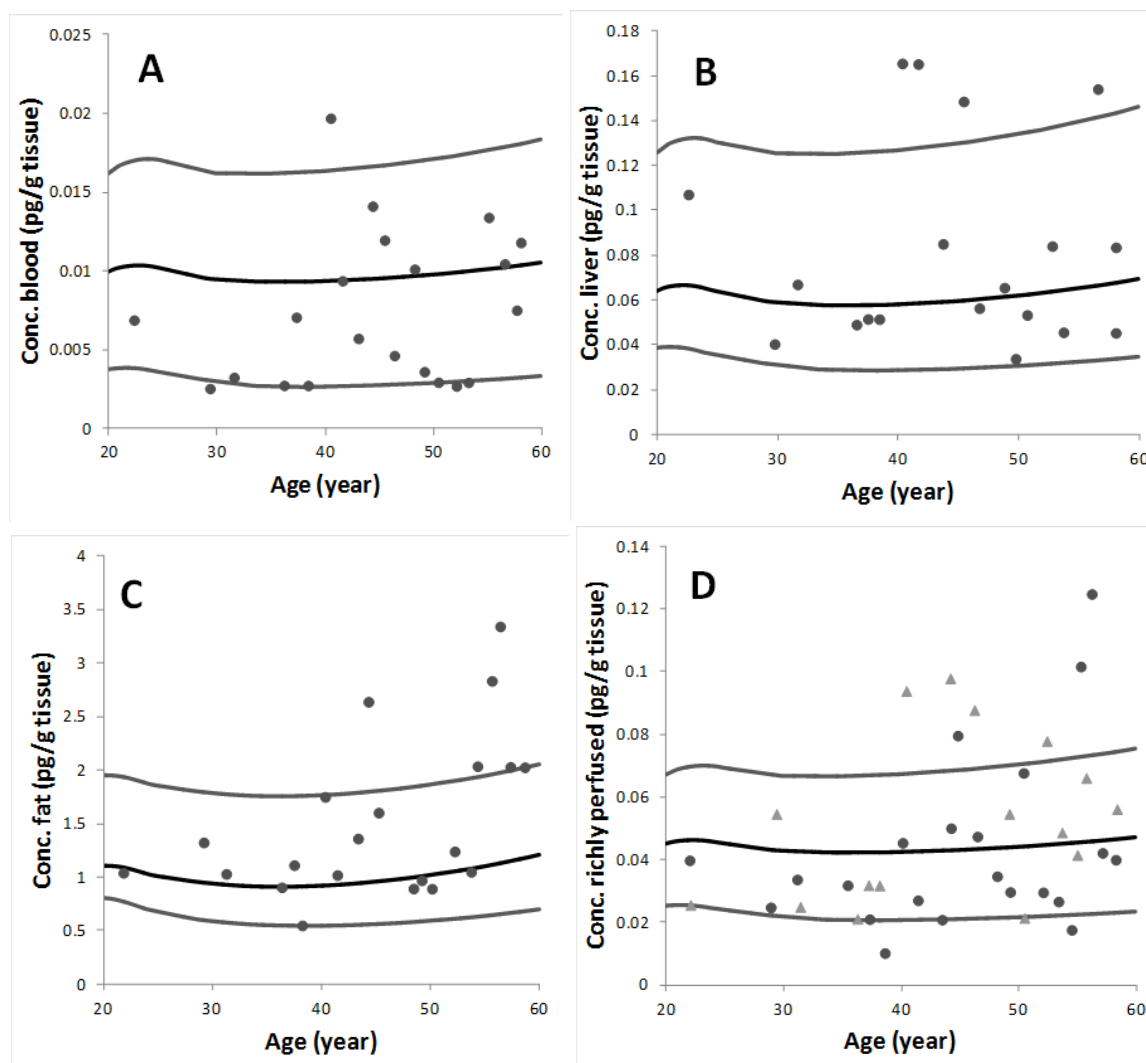


Figure 8: Simulated (lines) and measured (circles and triangles) TCDD concentrations in blood (A), liver (B), fat (C) and richly perfused tissue (D). The two grey lines are represented the 90% IC. Measured concentrations represented by circles were obtained from the report by Environment Agency [51] and the ones represented by triangles were obtained from Iida *et al.* [52].

Because the concentrations were quite stable over the time period considered, we also calculated the average concentration and compared the predictions with the measurements and the predictions provided by the PBPK model of Maruyama *et al.* [50] (Table 8). We observed that the predictions provided by both models were close. This result is not surprising because

the parameterization of the models was similar. The only difference relied in the values of the initial concentrations in organs in the former PBPK model. So in MERLIN-Expo, we run a lifetime simulation to the same exposure. We also observed that the variability in the experimental data was well reproduced by our model.

Table 8: Predicted and measured average concentrations of TCDD in blood, liver, fat and richly perfused tissue by MERLIN-Expo and a published model [50]. The mean is given with the standard deviation (SD) for the data, and the predictions of MERLIN-Expo with the 90% interval of confidence (IC).

Tissue	Concentrations (pg/g tissue)		
	Measured data ($\pm$ SD)	MERLIN-Expo (90% IC)	Maruyama <i>et al.</i> [50]
Blood	0.007 $\pm$ 0.005	0.009 [0.003; 0.017]	0.048
Liver	0.082 $\pm$ 0.045	0.062 [0.031; 0.131]	0.112
Fat	1.51 $\pm$ 0.735	1.07 [0.61; 1.84]	6.31
Richly perfused tissues	0.052 $\pm$ 0.026	0.044 [0.022; 0.069]	0.197

Exposure to Perfluorinated Compounds During Adulthood

Perfluorinated compounds (PFCs) are a group of fluorinated chemicals with surface-active properties, which have been manufactured for over 50 years and widely used in consumer products. Due to their extensive applications, PFCs have been released to the environment and bioaccumulate through the food chain [55, 56]. Recently, a number of studies have reported internal exposures to PFCs in human tissues [57, 58]. Recent investigations have shown that food intake and packaging, water, house dust and indoor air are all potentially significant sources of human exposure [59–61]. Among these sources, water consumption and food (specially, fish) have been identified as the most important routes of human exposure to PFCs.

This scenario focused on two compounds, perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA), the most extensively investigated PFCs, whose half-live are of the order of few years [62]. We used two datasets to benchmark the PBPK implemented in MERLIN-Expo on PFOS and PFOA. The first study reported the measured concentrations of PFOA in blood serum for residents from Little Hocking, Ohio (USA). The data were obtained from the website of the Little Hocking Water Association (LHWA) and from the article by Emmett *et al.* [63]. The exposure of the population was assumed to occur only *via* drinking water, and the daily intake was set to 3.55 ppb [63]. The second study was conducted by Ericson *et al.* [64] and Perez *et al.* [58]. They measured the PFOS and PFOA concentrations in blood and several tissues (liver, kidneys and lungs) of people living in Catalonia (Spain). To estimate the daily intake for PFOA, we used three studies on food contamination conducted in Spain

[59, 65, 66] and age-specific food consumption in Spain [67]. The total daily intakes for PFOS and PFOA were set respectively to 204.84 and 33.45 ng/day.

We used the values of a published PBPK model for PFOS and PFOA [68] to parameterise the PBPK model in MERLIN-Expo for the compound-specific parameters (Table 7). The structure of both models slightly differs for the urinary elimination of PFOS and PFOA. Indeed, Loccisano *et al.* [68] developed a PBPK model that integrates the reabsorption of the two perfluorinated compounds in kidneys. Even if this process is not modelled in MERLIN-Expo, we applied our model without modifications.

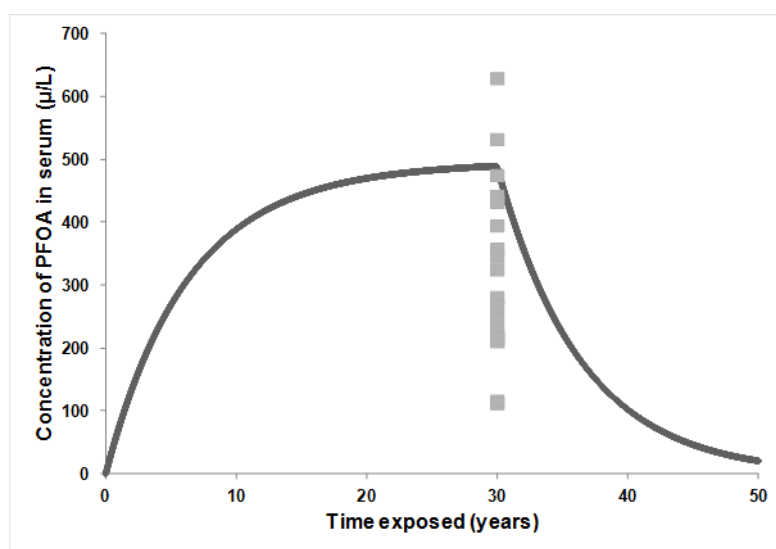


Fig. 9. Comparison of model simulations (lines) from MERLIN-Expo (B) with experimental data from Emmett *et al.* [63] (squares) and the Little Hocking Water Association website. The Little Hocking population was exposed to drinking water contaminated with PFOA (3.55 ppb). The simulations were run for an exposure period of 30 years.

First we run the scenario for the population of Little Hocking. Because the exposure duration was not known, the model was run until a steady state was reached in blood. The model predictions were then compared to the data (Fig. 9). We observed that the model prediction is included in the range of the observations even it is slightly superior to the mean or median of the measured concentrations. On the same figure, we also observed that 20 years are needed to eliminate PFOA from blood after that type of exposure. Then we run the second scenario for the population in Catalonia. The model predictions are represented together with the data on Fig. 10 for PFOS and on Fig. 11 for PFOA. The predictions of the blood concentration are in good agreement with the data for both compounds. Concentrations in the liver are close to the data for PFOS but are underestimated for PFOA (by a 2-factor). PFOA is detected in only one subject in kidneys, so no conclusion can be drawn, and for PFOS the predictions are

underestimated by a factor of 3. Concentrations in lungs are clearly underestimated for both compounds. So the predictions are comprised in a 3-factor, except for lungs which value of the partition coefficient used to parameterise MERLIN-Expo is clearly underestimated according to the experimental data.

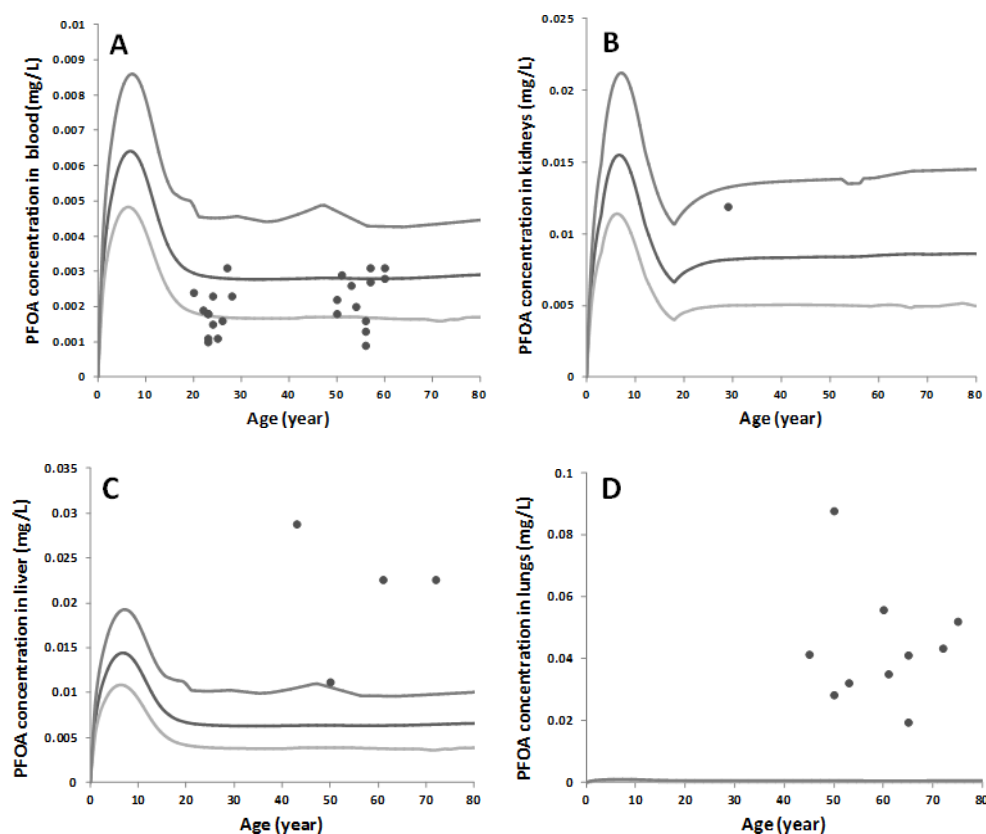


Figure 10. Simulated (lines) and measured (circles) PFOA concentrations in blood (A), kidneys (B), liver (C), and lungs (D). The two grey lines represent the 90% interval of confidence.

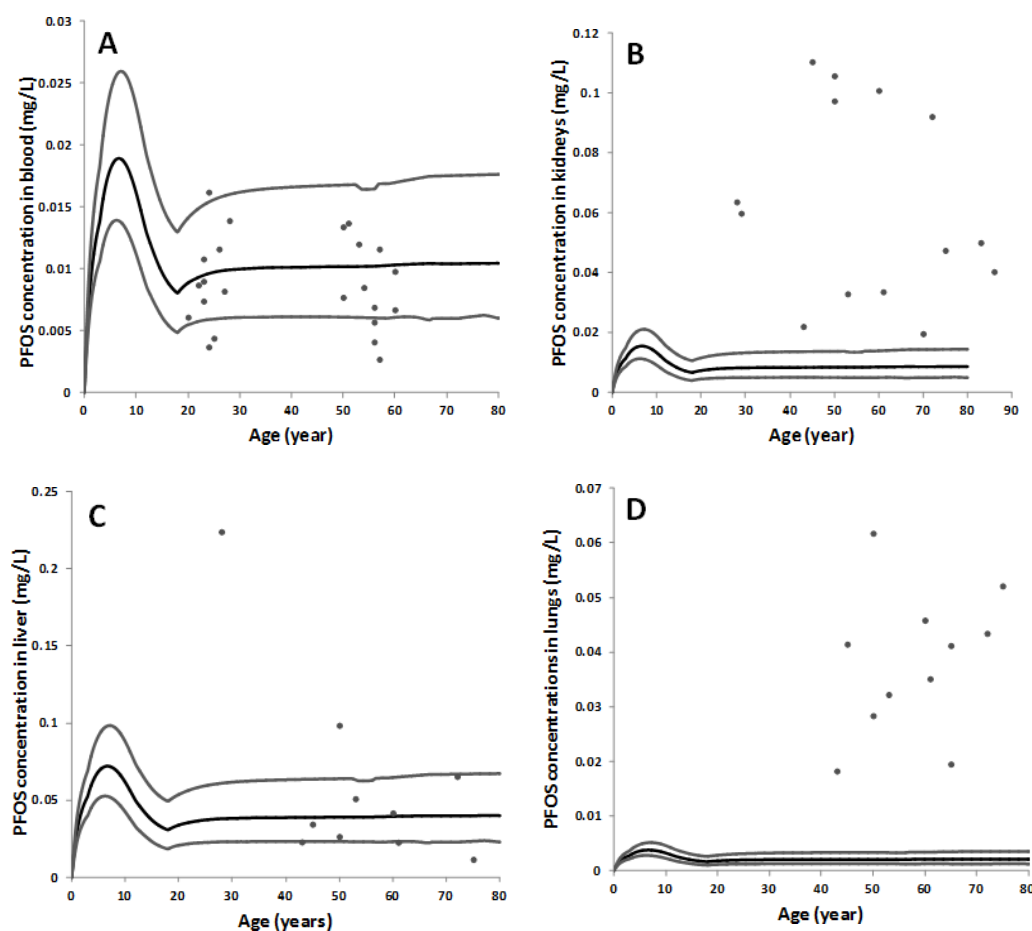


Figure 11 : Simulated (lines) and measured (circles) PFOS concentrations in blood (A), kidneys (B), liver (C), and lungs (D). The two grey lines represent the 90% interval of confidence.

Exposure to Lead

Lead is a metal that can be found in all parts of our environment: air, soil, water and indoor environment. Lead compounds have been used in a wide variety of products, including lead-based paints, ceramics, pipes and plumbing materials, solders, gasoline, batteries, ammunition and cosmetics. Long-term exposure to lead can cause toxicity effects as neurotoxicity. The lead blood level is a widely used biomarker to estimate the individual body burden.

We tested the PBPK model in MERLIN-Expo for adult exposure and used experimental data from Azar *et al.* [69]. In their study, Azar *et al.* [69] assessed the relationship between exposure to inorganic lead in the atmosphere and indices of lead absorption such as blood lead levels. The air lead exposure of 30 male subjects in five locations in the United States was measured, and blood samples were collected for analyses. Parameter values used for the MERLIN-Expo model are shown in Table 7 and were taken from the article by Sharma *et al.* [21]. For lead, we used the option ‘binding with erythrocytes’.

Figure 12 presents the predictions of the blood lead levels in adults using MERLIN-Expo that reproduced well the measured concentrations. Table 9 also presents the numerical values for the predictions and measurements and highlights the good correspondence between them (differences range between 1 and 20%).

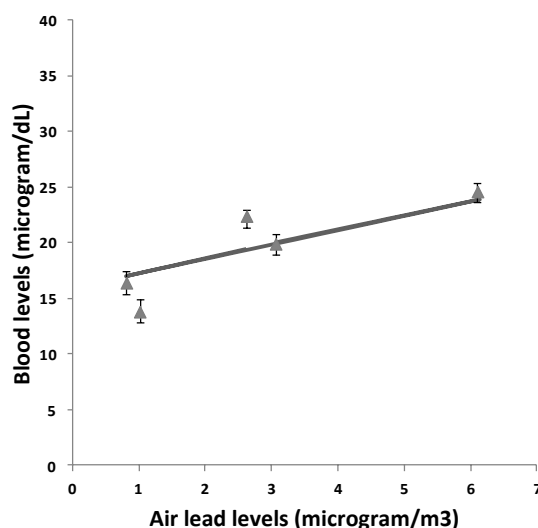


Figure 12: Comparison of the MERLIN-Expo predictions (plain curve) with measured blood levels in adults (triangles) [69].

Table 9. Experimental data for the exposure of adults to lead [69] and the blood levels predicted by MERLIN-Expo

Region	Air lead levels ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Lead concentration in blood ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	
		Observed mean	MERLIN-Expo predictions
Philadelphia	2.62	22.4	19.43
Starke, FL	81	16.4	16.99
Barksdale, WI	1.01	13.8	17.27
Los Angeles	6.10	24.6	23.81
Los Angeles	3.06	19.9	201

Conclusion

This chapter presented a detailed description of the human PBPK model implemented in MERLIN-Expo including model equations, parameter estimation and domain of validity. The PBPK model can be used either alone or together with multimedia environmental models of the MERLIN-Expo library to build realistic scenarios of exposure. Human variability can be modelled in the form of probability distribution functions to be assigned to the parameters varying within a population. As an illustration, the model was applied to three small case studies to be confronted to actual measurements in humans. Several exposure scenarios were modelled with different characteristics. Our results showed that the PBPK model was able to reproduce the toxicokinetics of the substances of interest within a range (*e.g.* a factor 3) that is acceptable in toxicokinetics modelling when no optimization was performed and that the human variability was well reproduced. In these case studies, the parameterization of the model was based on published PBPK models. Our model performance was very similar to the performance of those models. The parameterization is critical for an appropriate use of the PBPK model. Previous published PBPK models (as done in this chapter), toxicological *in vivo* or *in vitro* studies or *in silico* tools (as quantitative structure-activity relationships) can be used for this purpose.

References

1. Andersen ME (1991) Physiological modelling of organic compounds. *Ann Occup Hyg* 35 (3):309–321
2. Brochot C, Smith TJ, Bois FY (2007) Development of a physiologically based toxicokinetic model for butadiene and four major metabolites in humans: global sensitivity analysis for experimental design issues. *Chem Biol Interact* 167(3):168–183
3. Nestorov I (2003) Whole body pharmacokinetic models. *Clin Pharmacokinet* 42(10):883–908
4. Reddy MB, Yang RSH, Clewell III HJ, et al (2005) Physiologically based pharmacokinetic modelling: science and applications. Wiley, Hoboken
5. Teorell T (1937) Kinetics of distribution of substances administered to the body. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 57:205–240
6. Beaudouin R, Micallef S, Brochot C (2010) A stochastic whole-body physiologically based pharmacokinetic model to assess the impact of inter-individual variability on tissue dosimetry over the human lifespan. *Regul Toxicol Pharmacol* 57(1):103–116
7. Clewell HJ, Gentry PR, Covington TR, et al (2004) Evaluation of the potential impact of age- and gender-specific pharmacokinetic differences on tissue dosimetry. *Toxicol Sci* 79 (2):381–393
8. Edginton AN, Schmitt W, Willmann S (2006) Development and evaluation of a generic physiologically based pharmacokinetic model for children. *Clin Pharmacokinet* 45 (10):1013–1034
9. Kerger BD, Leung HW, Scott P, et al (2006) Age- and concentration-dependent elimination half-life of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in Seveso children. *Environ Health Perspect* 114(10):1596–1602
10. Haddad S, Restieri C, Krishnan K (2001) Characterization of age-related changes in body weight and organ weights from birth to adolescence in humans. *J Toxicol Environ Health A* 64 (6):453–464
11. Price K, Haddad S, Krishnan K (2003) Physiological modeling of age-specific changes in the pharmacokinetics of organic chemicals in children. *J Toxicol Environ Health A* 66(5):417–433

12. Yang F, Tong XP, McCarver DG, et al (2006) Population-based analysis of methadone distribution and metabolism using an age-dependent physiologically based pharmacokinetic model. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 33(4):485–518
13. Environmental Protection Agency (US EPA) (2006) Approaches for the application of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models and supporting data in risk assessment (final report). Environmental Protection Agency (US EPA), Washington, DC
14. International Programme on Chemical Safety (IPCS) (2010) Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment. World Health Organization, Geneva
15. Peters SA (2012) Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulations: principles, methods, and applications in the pharmaceutical industry. Wiley, Hoboken
16. Andersen ME (2003) Toxicokinetic modeling and its applications in chemical risk assessment. *Toxicol Lett* 138(1–2):9–27
17. Clewell HJ, Tan YM, Campbell JL, et al (2008) Quantitative interpretation of human biomonitoring data. *Toxicol Appl Pharmacol* 231(1):122–133
18. Ulaszewska MM, Ciffroy P, Tahraoui F, et al (2012) Interpreting PCB levels in breast milk using a physiologically based pharmacokinetic model to reconstruct the dynamic exposure of Italian women. *J Exposure Sci Environ Epidemiol* 22(6):601–609
19. Zeman FA, Boudet C, Tack K, et al (2013) Exposure assessment of phthalates in French pregnant women: results of the ELFE pilot study. *Int J Hyg Environ Health* 216(3):271–279
20. Gerlowski LE, Jain RK (1983) Physiologically based pharmacokinetic modeling: principles and applications. *J Pharm Sci* 72:1103–1127
21. Sharma M, Maheshwari M, Morisawa S (2005) Dietary and inhalation intake of lead and estimation of blood lead levels in adults and children in Kanpur, India. *Risk Anal* 25 (6):1573–1588
22. Pelkonen O, Turpeinen M (2007) In vitro-in vivo extrapolation of hepatic clearance: biological tools, scaling factors, model assumptions and correct concentrations. *Xenobiotica* 37 (10–11):1066–1089

23. Barter ZE, Bayliss MK, Beaune PH, et al (2007) Scaling factors for the extrapolation of in vivo metabolic drug clearance from in vitro data: Reaching a consensus on values of human microsomal protein and hepatocellularity per gram of liver. *Curr Drug Metab* 8(1):33–45
24. National Health and Nutrition Examination Survey (1995) Third national health and nutrition examination survey, 1988–1991. Selected laboratory and mobile examination center data. version 1, September 1995
25. Altman PL, Dittmer DS (1962) Growth, including reproduction and morphological development. Federation of American Societies for Experimental Biology, Washington, DC
26. International Commission on Radiological Protection (2002) Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values. Valentin J, Stockholm
27. Lexell J, Taylor CC, Sjostrom M (1988) What is the cause of the aging atrophy – total number, size and proportion of different fiber types studied in Whole vastus lateralis muscle from 15-year-old to 83-year-old men. *J Neurol Sci* 84(2–3):275–294
28. Luisada AA, Bhat PK, Knighten V (1980) Changes of cardiac-output caused by aging – an impedance cardiographic study. *Angiology* 31(2):75–81
29. Johnson TN, Rostami-Hodjegan A, Tucker GT (2006) Prediction of the clearance of eleven drugs and associated variability in neonates, infants and children. *Clin Pharmacokinet* 45(9):931–956
30. Vinegar A, Jepson GW, Overton JH (1998) PBPK modeling of short-term (0 to 5 min) human inhalation exposures to halogenated hydrocarbons. *Inhal Toxicol* 10(5):411–429
31. Darwich AS, Neuhoﬀ S, Jamei M, et al (2010) Interplay of metabolism and transport in determining oral drug absorption and gut wall metabolism: a simulation assessment using the “advanced dissolution, absorption, metabolism (ADAM)” model. *Curr Drug Metab* 11 (9):716–729
32. Yu LX, Lipka E, Crison JR, et al (1996) Transport approaches to the biopharmaceutical design of oral drug delivery systems: prediction of intestinal absorption. *Adv Drug Deliv Rev* 19 (3):359–376
33. Bois FY, Jamei M, Clewell HJ (2010) PBPK modelling of inter-individual variability in the pharmacokinetics of environmental chemicals. *Toxicology* 278(3):256–267

34. Kalow W (2001) Chapter 1: genetic factors that cause variability in human drug metabolism. In: Pacifici GM, Pelkonen O (eds) Interindividual variability in human drug metabolism. Taylor & Francis, London, pp. 1–14
35. Zeise L, Bois FY, Chiu WA, et al (2013) Addressing human variability in next-generation human health risk assessments of environmental chemicals. *Environ Health Perspect* 121 (1):23–31
36. Johns DO, Owens EO, Thompson CM, et al (2010) Physiological parameters and databases for PBPK modeling. In: Kannan K, Andersen ME (eds) Quantitative modeling in toxicology. Wiley, Chichester, pp. 107–134
37. Price PS, Conolly RB, Chaisson CF, et al (2003) Modeling interindividual variation in physiological factors used in PBPK models of humans. *Crit Rev Toxicol* 33(5):469–503
38. Dorne JL, Walton K, Renwick AG (2003) Human variability in CYP3A4 metabolism and CYP3A4-related uncertainty factors for risk assessment. *Food Chem Toxicol* 41(2):201–224
39. Mezzetti M, Ibrahim JG, Bois FY, et al (2003) A Bayesian compartmental model for the evaluation of 1,3-butadiene metabolism. *J R Stat Soc Ser C Appl Stat* 52:291–305
40. Poulin P, Krishnan K (1996) A tissue composition-based algorithm for predicting tissue: air partition coefficients of organic chemicals. *Toxicol Appl Pharmacol* 140(2):521–522
41. Plowchalk DR, Andersen ME, deBethizy JD (1992) A physiologically based pharmacokinetic model for nicotine disposition in the Sprague-Dawley rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 116 (2):177–188
42. Shin BS, Hong SH, Bulitta JB, et al (2009) Physiologically based pharmacokinetics of zearalenone. *J Toxicol Environ Health A* 72(21–22):1395–1405
43. Bjorkman S, Fyge A, Qi Z (1996) Determination of the steady state tissue distribution of midazolam in the rat. *J Pharm Sci* 85(8):887–889
44. Ichimura F, Yokogawa K, Yamana T, et al (1983) Physiological pharmacokinetic model for pentazocine. 1. Tissue distribution and elimination in the rat. *Int J Pharm* 15(3):321–333
45. Bjorkman S, Stanski DR, Verotta D, et al (1990) Comparative tissue concentration profiles of fentanyl and alfentanil in humans predicted from tissue/blood partition data obtained in rats. *Anesthesiology* 72(5):865–873

46. Ebling WF, Wada DR, Stanski DR (1994) From piecewise to full physiologic pharmacokinetic modeling: applied to thiopental disposition in the rat. *J Pharmacokinet Biopharm* 22 (4):259–292
47. Csanady GA, Oberste-Frielinghaus HR, Semder B, et al (2002) Distribution and unspecific protein binding of the xenoestrogens bisphenol A and daidzein. *Arch Toxicol* 76 (5–6):299–305
48. Gearhart JM, Mahle DA, Greene RJ, et al (1993) Variability of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model parameters and their effects on PBPK model predictions in a risk assessment for perchloroethylene (PCE). *Toxicol Lett* 68(1–2):131–144
49. Van der Molen GW, Kooijman SALM, Slob W (1996) A generic toxicokinetic model for persistent lipophilic compounds in humans: an application to TCDD. *Fundam Appl Toxicol* 31:83–94
50. Maruyama W, Yoshida K, Tanaka T, et al (2003) Simulation of dioxin accumulation in human tissues and analysis of reproductive risk. *Chemosphere* 53(4):301–313
51. Environment Agency (2000) Report of survey on the exposure of dioxins in human (in Japanese)
52. Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, et al (1999) Recent trend of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and their related compounds in the blood and sebum of Yusho and Yu-Cheng patients. *Chemosphere* 38(5):981–993
53. Milbrath MO, Wenger Y, Chang CW, et al (2009) Apparent half-lives of dioxins, furans, and polychlorinated biphenyls as a function of age, body fat, smoking status, and breast-feeding. *Environ Health Perspect* 117(3):417–425
54. Toyoda M, Uchibe H, Yanagi T, et al (1999) Dietary daily intake of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs by total diet study in Japan. *J Food Hyg Soc Jpn* 40(1):98–110
55. Houde M, De Silva AO, Muir DC, et al (2011) Monitoring of perfluorinated compounds in aquatic biota: an updated review. *Environ Sci Technol* 45(19):7962–7973
56. Noorlander CW, van Leeuwen SPJ, Biesebeek JDT, et al (2011) Levels of perfluorinated compounds in food and dietary intake of PFOS and PFOA in The Netherlands. *J Agric Food Chem* 59(13):7496–7505

57. Cornelis C, D'Hollander W, Roosens L, et al (2012) First assessment of population exposure to perfluorinated compounds in Flanders, Belgium. *Chemosphere* 86(3):308–314
58. Perez F, Nadal M, Navarro-Ortega A, et al (2013) Accumulation of perfluoroalkyl substances in human tissues. *Environ Int* 59:354–362
59. Domingo JL, Ericson-Jogsten I, Perello G, et al (2012) Human exposure to perfluorinated compounds in Catalonia, Spain: contribution of drinking water and fish and shellfish. *J Agric Food Chem* 60(17):4408–4415
60. Haug LS, Huber S, Becher G, et al (2011) Characterisation of human exposure pathways to perfluorinated compounds—comparing exposure estimates with biomarkers of exposure. *Environ Int* 37(4):687–693
61. Shoeib M, Harner T, Webster GM, et al (2011) Indoor sources of poly- and perfluorinated compounds (PFCS) in Vancouver, Canada: implications for human exposure. *Environ Sci Technol* 45(19):7999–8005
62. Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, et al (2007) Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect* 115(9):1298–1305
63. Emmett EA, Shofer FS, Zhang H, et al (2006) Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum concentrations and exposure sources. *J Occup Environ Med* 48(8):759–770
64. Ericson I, Gomez M, Nadal M, et al (2007) Perfluorinated chemicals in blood of residents in Catalonia (Spain) in relation to age and gender: a pilot study. *Environ Int* 33(5):616–623
65. Domingo JL, Jogsten IE, Eriksson U, et al (2012) Human dietary exposure to perfluoroalkyl substances in Catalonia, Spain. Temporal trend. *Food Chem* 135(3):1575–1582
66. Ericson I, Nadal M, van Bavel B, et al (2008) Levels of perfluorochemicals in water samples from Catalonia, Spain: is drinking water a significant contribution to human exposure? *Environ Sci Pollut R* 15(7):614–619
67. EFSA (2011) European Food Safety Authority database in exposure assessment

68. Loccisano AE, Campbell Jr JL, Andersen ME, et al (2011) Evaluation and prediction of pharmacokinetics of PFOA and PFOS in the monkey and human using a PBPK model. *Regul Toxicol Pharmacol* 59(1):157–175
69. Azar A, Snee RD, Habibi K (1975) An epidemiologic approach to community air lead exposure using personal air samplers. *Environ Qual Saf Suppl* 2:254–290

Annexe 5 : Épreuves auteur “Exposome : Vers une cartographie haut-débit des causes non-génétiques des maladies chroniques”

Publié dans YearBook Santé et environnement 2015 section Méthodologie. *Environnement, Risques & Santé*.

Paul Quindroit, Frédéric Y. Bois, C. Brochot

INERIS, DRC/VIVA/METO, Parc ALATA BP2, 60550 Verneuil en Halatte.

Contexte

Selon l'OMS, deux tiers de la population mondiale décèdent aujourd'hui de maladies chroniques, en particulier cardiovasculaires et cancéreuses. Ces maladies sont causées par une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux (facteurs physiques, chimiques, biologiques, sociaux, psychosociaux et esthétiques). Les expositions aux facteurs environnementaux sont extrêmement variées, changeantes et complexes, et la part des maladies chroniques qui leur est attribuable est très mal connue. On l'estime encore au mieux entre « faible » (20 %) et « majoritaire » (80 %). Il s'ensuit des batailles idéologiques, paralysantes et stériles, sous-tendues de préoccupations financières considérables, sur la « vraie » valeur de cette part attribuable et les meilleures stratégies de réduction de l'impact des maladies chroniques. La recherche en santé environnementale a depuis toujours recensé ces facteurs environnementaux, établi des liens entre expositions mesurées et maladies chroniques, déduit les risques pour la santé humaine et développé des politiques de santé publique plus ou moins appropriées. Depuis quelques années, des méthodes analytiques à haut débit (métabolomique) et le développement de capteurs individuels permettent une cartographie beaucoup plus large et efficace des expositions aux facteurs environnementaux. On parlait naguère de gènes et d'expositions, on parle maintenant de génomes et d'exposomes, de génomique et d'exposomique.

Définition de l'exposome

Terme proposé par Wild en 2005, qui constatait le déséquilibre entre notre connaissance du génome et celle de « l'environnement », l'exposome est un objet conceptuel, plus qu'un objet physique. Si l'objet n'a pas le mérite de la précision, le terme a celui de la nouveauté. L'exposome désigne donc le catalogue et la mesure de toutes les expositions subies par un

individu au cours de sa vie. Il comprend bien sûr les expositions chimiques ou physiques extérieures (toutes sources confondues), mais aussi le contexte psycho-social (par exemple, le stress induit par les horaires en 3/8) et les régulations du milieu intérieur (par exemple, le stress oxydant induit par une carence vitaminique) (Wild, 2005). L'exposomique est l'ensemble des méthodes concourant à l'établissement d'exposomes individuels. Seuls les facteurs de risque génétiques en sont exclus et l'exposome complète le génome par définition. Charge ensuite à l'épidémiologie d'agréger ces exposomes au niveau de la population et d'identifier les facteurs de risque les plus importants.

Pour essayer de préciser la notion d'exposome, trois grandes catégories de facteurs non génétiques peuvent être définies : facteurs internes, externes spécifiques et externes généraux. En interne, l'exposome intègre les processus tels que le métabolisme, les hormones endogènes circulantes, l'activité physique, la microflore intestinale, les processus inflammatoires, la peroxydation des lipides, le stress oxydant et le vieillissement, *etc.* Les expositions externes spécifiques comprennent les rayonnements, les agents infectieux, les substances et mélanges chimiques (y compris alcools, tabacs, *etc.*), l'alimentation et les interventions médicales, entre autres. Finalement les facteurs généraux incluent les influences sociales, économiques et psychologiques propres à l'individu (capital social, éducation, situation financière, stress psychologique, l'environnement urbain ou rural et le climat). Il peut s'avérer difficile de classer une exposition dans une des trois catégories et certaines expositions peuvent se retrouver dans plusieurs catégories à la fois.

Méthodologies

Cartographier l'exposome d'un individu est une tâche titanesque en raison de la complexité des données à collecter sur une vie entière. L'exposomique telle qu'elle est définie plus haut est un peu un rêve d'omniscience. La réalité est plus prosaïque. Les innombrables expositions spécifiques sont difficiles à mesurer en raison d'un manque pur et simple de connaissance de leur existence, ou de l'absence de méthodes suffisamment sensibles. Les indicateurs d'exposition peuvent être transitoires et certaines fenêtres d'exposition telles que la grossesse, la petite enfance, la puberté ou les années de reproduction sont peut-être plus critiques que d'autres. Opérationnellement, deux approches complémentaires coexistent pour caractériser l'exposome individuel (Rappaport, 2011) :

- L'approche « ascendante » part de la mesure de chaque source d'exposition externe et des caractéristiques personnelles d'un sujet pour estimer l'exposome individuel. Elle est

classique, mais sa mise en œuvre extensive demande énormément de ressources, avec le risque de passer à côté d'une exposition non identifiée ou de minimiser l'impact des processus endogènes.

- L'approche « descendante » utilise des mesures biologiques (sur prélèvements sanguins, urinaires, *etc.*) afin de reconstituer l'exposition individuelle. Les méthodologies employées reposent essentiellement sur les technologies omiques. L'inconvénient d'une telle approche est la difficulté à lier les expositions internes à des sources externes précises.

Les méthodes utilisées les plus avancées sont donc la métabolomique (mesure par résonance magnétique nucléaire ou spectroscopie de masse des concentrations de l'ensemble, en théorie, des petites molécules présentes dans un milieu donné) et l'utilisation en continu de capteurs individuels. De tels capteurs et les téléphones « intelligents » permettent de recueillir de multiples paramètres physiologiques ou de l'environnement. La masse de données fournies par ces méthodes requiert des analyses statistiques sophistiquées et des méthodes intégratives dont le développement est actuellement un vrai défi scientifique. Par exemple, il faut des modèles d'exposition interne, tels que les modèles toxicocinétiques, permettant de cumuler au niveau individuel des expositions spatialisées très diverses. Pour le moment on se contente souvent de résumer les données obtenues par quelques mesures compréhensibles qui prennent alors le nom de biomarqueurs. Par exemple on a proposé de mesurer le stress psychosocial à l'aide de biomarqueurs tels que les niveaux de cortisol sanguins. Ces biomarqueurs peuvent permettre de reconstruire des expositions passées, de comprendre l'origine des différences de susceptibilité ou de mesurer des effets plus ou moins précoces ou subtils. En outre, ils s'intègrent utilement dans une description causale des mécanismes des relations expositions-pathologies.

État des connaissances et actualité scientifique en 2015

Plusieurs projets collaboratifs ont émergé tant au niveau américain qu'europpéen pour répondre aux défis posés par la dimension multidisciplinaire de l'exposome. Parmi ces projets, on peut citer HERCULES pour le développement de nouveaux outils et technologies omiques, les projets CHEAR et HELIX sur la caractérisation de l'exposome chez l'enfant depuis sa conception, et les projets EXPOSOMICS et HEALS qui visent à déterminer l'exposome à un niveau individuel.

L'application du concept d'exposome reste encore difficile à mettre en œuvre. Par exemple, Robinson *et al.* (2015) ont caractérisé les corrélations entre différents groupes d'expositions,

incluant des composés chimiques (métaux, polluants de l'eau, *etc.*), l'environnement quotidien (espaces verts, densité de population), le bruit environnemental et la température, durant la grossesse. Leurs résultats montrent que les niveaux des entités composant un même groupe d'exposition sont fortement corrélés. Par exemple, les différents indicateurs de bruit montrent les plus fortes intra-corrélations (r médian = 0.99) et les différents composés perfluorés un r médian de 0.62. Cependant la majorité des corrélations intergroupes étaient très faibles (seules 11 % étaient supérieures à 0.5). De telles études mettent en avant le besoin de nouvelles méthodes d'analyse afin de limiter les biais des analyses actuelles et ainsi améliorer la détection de liens causaux.

Rogler *et al.* (2015) passent en revue les facteurs environnementaux pouvant modifier l'activité métabolique de la microflore intestinale, en lien avec l'apparition de maladies inflammatoires de l'intestin (MII). L'augmentation récente des cas de MII pourrait peut-être plus facilement s'expliquer par des changements d'expositions environnementales que par des changements génétiques rapides. Parmi les facteurs environnementaux potentiels recensés on peut citer : la pollution de l'air, les aliments riches en protéines animales, les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens ou antibiotiques, un contexte psychosocial dégradé, les infections bactériennes, la pollution de l'eau, les additifs alimentaires, le tabagisme. Cette étude offre une vision relativement complète des liens entre exposome et MII, mais sans établir de hiérarchie entre les différentes expositions.

De façon plus appliquée, Andra *et al.* (2015) ont reconstruit l'exposition prénatale et de l'enfance à des produits chimiques organiques à l'aide des dents de lait. De nombreuses substances chimiques (métaux et composés organiques dont certaines ont de très courtes demi-vies dans le sang et l'urine) peuvent être mesurées rétrospectivement de cette façon.

Actualités réglementaires et législatives

En France, le Plan National Santé Environnement (PNSE) vise à développer depuis 2004 une approche multidisciplinaire en santé environnementale. La partie "enjeux de connaissance des expositions, de leurs effets et les leviers d'action" de la troisième édition (2015-2019) du plan fait plus explicitement référence à l'exposome, lien entre une approche par milieux et une approche par pathologies. L'exposome est pris comme un ensemble d'indicateurs pour des programmes de biosurveillance offrant une vision intégrée de l'historique des expositions aux agents chimiques, physiques et infectieux. Enfin, la loi de modernisation du système de santé

français, adoptée le 17 décembre 2015 à l'Assemblée Nationale, fait également référence à l'exposome comme base de l'identification des facteurs de risque sanitaire.

Perspectives et questions

Tout d'abord, il est essentiel que l'exposomique respecte des principes éthiques. On conçoit facilement qu'un suivi exhaustif des activités des individus, même en vue d'assurer leur santé, puisse être détourné très loin de cet objectif. De plus de nombreuses expositions environnementales préoccupantes manquent de biomarqueurs d'exposition spécifiques et sensibles (par exemple, le bruit, la température ou les champs électromagnétiques). Une autre question clé concerne la validation de biomarqueurs omiques et de fait, peu de ces biomarqueurs ont été correctement validés par des études épidémiologiques. L'exposomique devrait aussi mieux intégrer les sciences sociales. Dans bon nombre de cohortes épidémiologiques, les couches socio-économiques les plus faibles sont sous-représentées alors qu'*a priori* leurs risques de maladies chroniques est plus élevé que celui du reste de la population. Par ailleurs, d'un point de vue conceptuel, où s'arrête l'exposomique et où commence la biologie systémique ? Le génome régule le protéome et le métabolome et *vice versa*, et la question est ouverte : qu'en est-il de l'épigénome ?

Enfin, le rapport « *Exposure Science in the 21st Century: A Vision and a Strategy* » du *National Research Council* américain propose un concept d'« éco-exposome » encore plus large, plaidant pour la collecte de données d'exposition pour caractériser la santé des écosystèmes, sous l'hypothèse qu'un écosystème sain est une condition préalable à une bonne santé humaine. Nous n'avons probablement pas fini d'entendre parler de « *Big Science* » et de « *Big Data* »...

Références

Andra, S.S., Austin, C., Wright, R.O., Arora, M., 2015. Reconstructing pre-natal and early childhood exposure to multi-class organic chemicals using teeth: Towards a retrospective temporal exposome. *Environment international* 83, 137–45.

Rappaport, S.M., 2011. Implications of the exposome for exposure science. *J Expo Sci Env Epid* 21, 5–9.

Robinson, O., Basagana, X., Agier, L., de Castro, M., Hernandez-Ferrer, C., Gonzalez, J.R., Grimalt, J.O., Nieuwenhuijsen, M., Sunyer, J., Slama, R., Vrijheid, M., 2015. The Pregnancy Exposome: Multiple Environmental Exposures in the INMA-Sabadell Birth Cohort. *Environ Sci Technol* 49, 10632–10641.

Rogler, G., Vavricka, S., 2015. Exposome in IBD: Recent Insights in Environmental Factors that Influence the Onset and Course of IBD. *Inflamm Bowel Dis* 21, 400–408.

Wild, C.P., 2005. Complementing the genome with an “exposome”: The outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidem Biomar* 14, 1847–1850.

Annexe 6 : Valorisation des travaux de thèse

Publications

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

Brochot, C. and **Quindroit, P.** (2017). Modelling the Fate of Chemicals in Humans Using a Lifetime Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Model in MERLIN-Expo. *Modelling the Fate of Chemicals in the Environment and the Human Body*, pp.215-257.

Quindroit, P., Bois, F-Y. et Brochot, C. (2016). Exposome : vers une cartographie haut-débit des causes non-génétiques des maladies chroniques. *YearBook Santé et Environnement 2016*.

Communications orales

Quindroit, P. and Brochot, C. Development of a toxicokinetic modeling approach to estimate the cumulative exposure to pyrethroids. 27th Annual ISES Meeting, Research Triangle Park, North-Carolina, États-Unis, Octobre 2017.

Sessions posters

Regrain C., Zeman F., Guedda M., Brochot C., Bonnard R., Lemaire V., Létinois L., Tognet F., **Quindroit P.**, Bach V., Chardon K., Caudeville J. Caractérisation de l'exposition environnementale spatialisée aux pyréthrinoïdes en Picardie. Colloque Agriculture et qualité de l'air, INRA, Paris, mars 2019.

Regrain C., Zeman F., Guedda M., Brochot C., Bonnard R., Lemaire V., Létinois L., Tognet F., **Quindroit P.**, Bach V., Chardon K., Caudeville J. Caractérisation de l'exposition environnementale spatialisée aux pyréthrinoïdes en Picardie. 2^{ème} Rencontres Nationales Santé – Environnement, Bordeaux, janvier 2019.

Quindroit, P. and Brochot, C. Development of a generic PBPK model for pyrethroids to assess the cumulative exposure of populations. Poster session 26th Annual ISES Meeting, Utrecht, Pays-Bas, Octobre 2016.

Quindroit, P. and Brochot, C. Development of a generic PBPK model for pyrethroids to assess the cumulative exposure of populations. 4th European Doctoral College on Environment and Health, Rennes, France, Juin 2016.

Quindroit, P. and Brochot, C. Development of a generic PBPK model for pyrethroids to assess the cumulative exposure of populations. Journée des doctorants ABIES 2016, Paris, France, Avril 2016.

Title : Evaluation of pyrethroid exposures by toxicokinetic modeling of biomonitoring data: application to the general French population.

Keywords : pyrethroids, metabolites, PBPK modeling, biomonitoring, cumulative exposure, exposure assessment.

Abstract :

Pyrethroids are ubiquitous insecticides used in many sectors. Human populations are likely to be exposed by several environmental media (air, soil, food, products; *etc.*), which enter the human system through various routes (inhalation, ingestion and skin contact). While some compounds are more toxic than others, parent compounds are suspected of inducing neuronal and hormonal disturbances in humans. Urinary concentrations of pyrethroid metabolites, which can be common to several pyrethroids, are often the only biomarkers of exposure. These concentrations must then be compared with the external exposure doses, which are used as the reference values for regulatory thresholds. This project develops an approach to analyze measurements of biomarkers in urine and estimate global exposure to pyrethroids based on PBPK modeling of pyrethroids. First, a global PBPK model was developed to link the external exposure of four pyrethroids (permethrin, cypermethrin, cyfluthrin and deltamethrin) and their isomers to urinary concentrations of metabolites (*cis*- and *trans*-DCCA, 3-PBA, F-PBA and DBCA). The model simulates aggregate cumulative exposures by multiple pathways (inhalation, ingestion, and skin contact). The global model was evaluated with human toxicokinetic data and tested with realistic exposures for the French population. The global model was then used to estimate the exposures of the French general population to pyrethroids from biomarkers, as measured by the ENNS study conducted by Santé Publique France. To address the problem of nonuniqueness of inverse solutions related to cypermethrin and permethrin (*i.e.* share two common metabolites but no specific one), we proposed a methodology based on food consumption questionnaires. This thesis demonstrates the viability of generic PBPK modeling for pyrethroids and the potential of such a model to improve the interpretation of pyrethroid exposure biomarkers.

Titre : Évaluation des expositions aux pyréthriinoïdes par la modélisation toxicocinétique de données de biosurveillance : application à la population générale française.

Mots-clés : pyréthriinoïdes, métabolites, modélisation PBPK, biosurveillance, exposition cumulée, évaluation de l'exposition.

Résumé :

Les pyréthriinoïdes sont des insecticides ubiquitaires utilisés dans de nombreux domaines et par ce fait, les populations humaines sont susceptibles d'y être exposées par plusieurs médias environnementaux (air, sol, aliments, produits *etc.*) et plusieurs voies (inhalation, ingestion et contact cutané). Le composé parent est suspecté d'induire des perturbations neuronales et hormonales chez l'humain et certains composés sont plus toxiques que d'autres. Les concentrations urinaires de métabolites des pyréthriinoïdes sont souvent les seuls biomarqueurs d'une exposition humaine et ces métabolites étant parfois communs à plusieurs pyréthriinoïdes, les biomarqueurs sont le reflet d'une exposition globale et non à un pyréthriinoïde spécifique. Ces imprégnations doivent être mises en regard des doses d'expositions externes qui sont les valeurs de référence utilisées pour fixer des seuils réglementaires. Le travail consiste à développer une approche basée sur la modélisation PBPK des pyréthriinoïdes afin d'analyser les mesures de biomarqueurs dans les urines. Tout d'abord, un modèle PBPK global a été développé pour relier l'exposition externe de quatre pyréthriinoïdes (perméthrine, cyperméthrine, cyfluthrine et deltaméthrine) et de leurs isomères aux concentrations urinaires de métabolites (*cis*- et *trans*-DCCA, 3-PBA, F-PBA et DBCA). Le modèle permet de simuler les expositions cumulées agrégées par des voies multiples (inhalation, ingestion et contact cutané). Le modèle PBPK global a été évalué avec des données toxicocinétiques humaines et testé avec des expositions réalistes pour la population française. Le modèle a ensuite été utilisé pour estimer les expositions de la population générale française à partir de biomarqueurs d'exposition. L'étude ENNS réalisée par Santé Publique France a été utilisée. Nous avons mis en évidence des problèmes d'identifiabilité liés à la cyperméthrine et la perméthrine (*i.e.* partagent deux métabolites communs, mais pas de spécifique) et avons proposé une méthodologie basée sur les questionnaires de consommation alimentaire. Ce travail de thèse souligne la possibilité d'établir un modèle PBPK générique pour les pyréthriinoïdes et sur son applicabilité pour améliorer l'interprétation des biomarqueurs d'exposition aux pyréthriinoïdes.