

Projet MECOTOX

1. Contexte/justification scientifique :

Il existe des hypothèses fortes sur le rôle des expositions au cours de la vie fœtale aux toxiques de l'environnement dans la survenue des malformations congénitales (Wigle 2008). Plusieurs études suggèrent une association entre l'exposition pendant la grossesse à des perturbateurs endocriniens et la survenue d'anomalies de l'appareil génital du petit garçon, telles que les hypospades ou les cryptorchidies (Toppari 1996, Fernandez 2007, Rocheleau 2009, Gaspari 2011, Carmichael 2013). En particulier, compte-tenu des propriétés de perturbation endocrinienne de certains pesticides, des études récentes ont évalué le risque d'anomalies génitales chez le petit garçon en association avec l'exposition professionnelle aux pesticides pendant la grossesse et tendent à montrer une augmentation du risque (Rocheleau 2009, Andersen 2008, Gabel 2011, Gaspari 2011) mais qui n'est pas toujours confirmée (Rocheleau 2011).

S'agissant d'étudier le lien entre l'exposition à des pesticides et la survenue d'une malformation congénitale (hypospade) pour laquelle il existe des hypothèses environnementales fortes, ce projet s'inscrit dans la question à la recherche PEST2.1. Ce projet s'intéressera, comme objectif secondaire, à d'autres malformations (cardiaques en particulier). Le projet relève également de la question ACHIM2 dans la mesure où un certain nombre de pesticides qui seront mesurés possèdent des propriétés hormonales (perturbateur endocrinien), comme par exemple le linuron, une molécule antiandrogénique, et que les risques associés seront étudiés dans la population vulnérable des femmes enceintes et de leur fœtus. La mesure de multiples pesticides dans la matrice méconiale permettra d'appréhender au mieux l'exposition fœtale à ces substances durant une large période de la vie *in utero* et d'étudier leur impact possible sur la survenue de malformations.

2. Objectifs du projet

L'objectif du projet est d'évaluer l'impact de l'exposition cumulée aux pesticides contemporains pendant la vie fœtale sur le risque d'anomalie génitale du petit garçon (hypospade) à la naissance à l'aide de mesures de multiples pesticides dans le méconium.

Alors que des indices, même si encore débattus, s'accumulent pour le contexte d'exposition professionnelle, la question d'un lien entre une exposition fœtale (non professionnelle) aux toxiques de l'environnement et les anomalies génitales du petit garçon se pose. L'une des difficultés repose sur l'imprécision des mesures de l'exposition employées, qu'il s'agisse d'estimations indirectes (via des questionnaires, des matrices emplois-expositions ou encore des systèmes d'information géographiques) ou directes dans des matrices biologiques (sang et urines maternelles au cours de la grossesse, sang du cordon). Si ces matrices biologiques sont pertinentes pour des substances à longue durée de vie dans l'organisme, elles le sont beaucoup moins pour des substances à courte durée de vie (demi-vie de quelques heures ou jours).

Le méconium comme matrice biologique utilisée pour l'évaluation des expositions à des substances chimiques au cours de la grossesse (Ostrea 2006) est encore à ce jour peu utilisé dans les études épidémiologiques. Or, le méconium se forme et s'accumule chez le fœtus à partir de la 12^{ème} semaine de gestation et jusqu'à l'accouchement, reflétant ainsi une large période de la vie fœtale. Cette matrice présente ainsi un avantage indéniable, celui de pouvoir refléter une exposition cumulée à des substances (molécules mères ou métabolites) à courte durée de vie dans l'organisme - comme c'est le cas pour de nombreux pesticides actuellement utilisés - et qui ont pu atteindre le fœtus. Le recueil du méconium est simple et non-invasif, et il a déjà été utilisé pour détecter l'exposition fœtale à des drogues (Moore 1998), à l'alcool (Morini 2010) et à certains pesticides, avec une bonne sensibilité (Ostrea 2008, Berton 2014).

La présente étude se déroulera en Bretagne où le registre des malformations congénitales recense une prévalence d'hypospade (0,33%) plus élevée que celle des autres registres Français et du réseau européen EUROCAT (Bergman 2015). De plus, cette région se caractérise par une activité agricole importante. La cohorte mère-enfant Pélagie mise en place en Bretagne a permis de montrer, à l'aide de dosages urinaires au cours du premier trimestre de grossesse, l'existence d'une exposition fréquente (90%) à des insecticides non persistants, organophosphorés et pyréthrinoïdes, utilisés à la fois en usage agricole et domestique (Chevrier 2009, Viel 2015).

L'originalité de ce projet repose donc sur : i) le recrutement des sujets en population générale, à partir d'un registre de malformations congénitales, ii) dans une région dans laquelle l'exposition de la population aux pesticides est attendue et présumée importante, et iii) sur une mesure directe de l'exposition par dosage de biomarqueurs dans la matrice méconium, permettant de refléter l'exposition cumulée du fœtus depuis la 12^{ème} semaine de gestation jusqu'à l'accouchement.

3. Méthodes/description du projet

3.1 Population et recueil des données :

Ce projet repose sur une étude cas- témoins qui s'appuie sur un recueil de données déjà en cours, depuis mars 2013, mené par le Registre des malformations congénitales de Bretagne (Etude PENEW, promoteur CHU Rennes). L'interface avec le projet PENEW est de pouvoir utiliser les données recueillies dans cette base, pour une sous-population de sujets (les cas d'hypospades et leurs témoins appariés), pour la réalisation d'analyses chimiques spécifiques selon une méthode qui sera développée dans le cadre du projet MECOTOX. Le financement demandé pour MECOTOX ne comprend pas cette phase de recueil de données.

3.1.1 La population d'étude :

Les cas sont des nouveau-nés qui présentent un hypospade diagnostiqué à la naissance, nés dans une des 13 maternités bretonnes ayant accepté de participer à l'étude PENEW, et de mère résidant en Bretagne au moment de la grossesse. Pour tous les cas, le diagnostic d'hypospade (abouchement ectopique du méat urétral à la face ventrale du pénis) et la précision de la localisation anatomique du méat urétral (balanique, pénien, scrotal, périnéal) est confirmé par un pédiatre ou un chirurgien pédiatrique à distance de la naissance, afin d'éliminer les formes douteuses à la naissance qui peuvent s'avérer correspondre à des prépuces incomplètes avec méat urétral en place. Les critères d'inclusion des hypospades respectent les recommandations du réseau Européen EUROCAT (EUROCAT 2005). Les cas qui sont infirmés sont secondairement exclus.

Pour chaque cas deux témoins sont appariés. Il s'agit des deux naissances vivantes suivant la naissance du cas index, de sexe masculin, dans la même maternité, indemnes de toute malformation, non hospitalisés en néonatalogie, et de mère domiciliée en Bretagne au cours de sa grossesse.

L'objectif est de pouvoir inclure dans le projet MECOTOX, cent cas de nouveau-nés présentant un hypospade et 2 témoins appariés. En février 2016, soixante-dix cas et 140 témoins étaient déjà inclus avec une qualité de recueil des données consolidée.

3.1.2 Recueil du méconium :

Pour tous les cas et témoins, le méconium est recueilli, de façon standardisée par les équipes soignantes des maternités, lors de l'émission naturelle des premiers méconiums. Les procédures de recueil sur les couches de l'enfant excluent tout usage préalable sur la peau du nouveau-né d'agent contenant des dérivés alcooliques, antiseptiques ou solvants susceptibles de contaminer le prélèvement et d'interférer dans les mesures ultérieures : la toilette du siège doit se limiter à l'usage de coton ou de compresses imbibées d'eau ou de sérum physiologique (NaCl 9‰). Le personnel

soignant ne doit pas s'être au préalable désinfecté les mains à l'aide d'une solution hydro-alcoolique, mais plutôt mettre des gants à usage unique non poudrés avant de procéder au recueil de méconium dans la couche.

Le méconium est prélevé dès son émission, à partir des couches, dans des pots à coproculture, à l'aide de la spatule fournie avec le pot. Afin de garantir l'homogénéité des conditions de stockage, les pots à coproculture sont fournis par l'étude pour chaque centre. Chaque émission méconiale est recueillie dans un pot différent, l'objectif étant de recueillir 3 pots par nouveau-né. Les pots de méconium sont immédiatement stockés dans des congélateurs à -20 degrés, dédiés à l'étude, sur chaque site de naissance. Ils sont secondairement rapatriés au Centre de Ressources Biologiques du CHU de Rennes pour stockage à - 80 degrés. Ils seront ensuite transférés au Laboratoire d'Etude et de Recherche en Environnement et Santé (LERES) pour les analyses dans le cadre de ce projet.

3.1.3 Recueil des données médicales et covariables :

Les données médicales concernant les pathologies maternelles et obstétricales sont renseignées par les enquêteurs du Registre des malformations à partir des dossiers médicaux hospitaliers.

Un questionnaire détaillé est rempli par la mère pendant son séjour à la maternité. Il renseigne sur divers facteurs, en particulier, l'âge des parents, le niveau socio-économique, les prises de médicaments pendant la grossesse, la supplémentation par acide folique en période péri-conceptionnelle, les habitudes de vie (alcool, tabac, stupéfiants), les expositions domestiques aux pesticides.

L'activité professionnelle en début de grossesse est renseignée de façon détaillée, permettant d'utiliser des matrices emploi-exposition (par exemple du programme MATGENE, InVS, compte-tenu d'un risque possible associé à l'exposition professionnelle aux solvants, Garlantezec 2009).

L'exposition environnementale aux pesticides liée à la proximité des lieux de vie aux zones agricoles sera mesurée à l'aide d'un système d'information géographique (SIG) à partir du recensement de la présence de zones agricoles à proximité du domicile (surface et type de cultures à partir des données spatialisées du Registre Parcellaire Graphique agricole, issues des déclarations des agriculteurs rendues obligatoires annuellement pour l'obtention des subventions selon une directive Européenne depuis 2006), et de la connaissance des préconisations sur les usages de phytosanitaires par culture (Chambre régionale d'Agriculture, Base nationale de données de ventes des produits phytosanitaires, BNV-d, disponible à partir de fin 2016).

3.2 Analyses chimiques

La liste des pesticides à analyser a été co-construite avec l'ensemble des partenaires du présent projet MECOTOX (liste détaillée en ANNEXE). Cette liste couvre des métabolites de pesticides organophosphorés, des métabolites de pesticides pyréthriinoïdes, des métabolites de carbamates et quelques molécules mères de plusieurs familles (chloroacétamides, triazoles, phénylurées, strobilurines, carbamates...). La méthode d'analyse des pesticides et des métabolites de pesticides d'intérêt dans le méconium sera développée et validée en s'appuyant sur l'expertise du LERES et la littérature scientifique encore peu documentée (Berton 2014). Le développement sera réalisé selon les procédures internes en vigueur au LERES répondant aux exigences du comité français d'accréditation (Cofrac). Les échantillons de méconium seront dans un premier temps séchés par lyophilisation (72 heures) puis broyés afin d'obtenir une poudre de méconium homogène sans dégrader les substances d'intérêts. Celles-ci seront ensuite extraites de la poudre de méconium par extraction accélérée par solvant (ASE) à l'aide d'un automate. Les extraits obtenus seront purifiés par extraction sur phase solide (SPE) avant d'être analysés par chromatographie en phase liquide ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UHPLC/MS/MS) ou haute

résolution (UHPLC/HRMS). Pour fiabiliser la quantification et ainsi garantir la qualité des résultats, le LERES utilisera des étalons internes marqués (deutérés ou marqués au carbone 13 ou à l'azote 15), introduits dans l'échantillon dès le début du protocole, afin de corriger d'éventuels pertes d'analyte ou effets de matrice au cours de l'analyse. Le LERES dispose d'ores et déjà des équipements adaptés et performants pour mener à bien le projet (lyophilisateur, automate d'extraction accélérée par solvant (ASE), UHPLC/MS/MS, RRLC/MS/MS, UHPLC/HRMS) ainsi que l'expertise en matière d'analyse de pesticides et métabolites de pesticides dans les urines (dont la liste est très proche de celle du projet MECOTOX). Il a par ailleurs déjà testé avec succès la procédure de préparation des échantillons de méconium (lyophilisation puis broyage) dans le cadre d'une phase pilote sur quelques échantillons.

En l'absence de normes équivalentes pour la matrice méconium, les performances de la méthode développée seront évaluées (limites de quantification, rendements d'extraction, justesse, exactitude...) selon la norme française NF T 90-210 (Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire, Mai 2009) et les incertitudes de mesure estimées selon la norme française NF ISO 11352 (Qualité de l'eau - Estimation de l'incertitude de mesure basée sur des données de validation et de contrôle qualité, Février 2013). A terme, la méthode pourra être publiée dans un journal de référence en chimie analytique (Journal of Chromatography A, Analytical Chemistry...). Les procédures qualité en vigueur au LERES seront également appliquées à la campagne d'analyses. Le laboratoire aura notamment recours à des contrôles internes et des matériaux de référence certifiés si disponibles et participera à des essais inter-laboratoire (EIL) si l'opportunité se présente.

3.3 Traitement statistique et valorisation :

L'association entre l'exposition cumulée aux pesticides pendant la vie intra-utérine, mesurée par les concentrations méconiales, et le risque d'hypospade sera mesurée à l'aide de modèles de régressions logistiques conditionnelles, ajustés sur des facteurs de confusion potentiels.

Chaque molécule sera étudiée individuellement dans un premier temps. Les concentrations méconiales seront étudiées comme variables catégorielles, ou/et comme variables continues en cas de taux de détection >70% et de relation monotone avec le risque. Les variables continues seront transformées si nécessaire et des modèles splines seront envisagés en cas de relation non monotones. En fonction des corrélations observées entre les concentrations de pesticides et métabolites de pesticides (expositions multiples), nous envisagerons un modèle semi-bayésien à deux étapes de manière à prendre en compte l'ensemble des molécules simultanément (Braun 2014). La taille de notre échantillon nous permettra de mettre en évidence un OR de 1,7 entre le premier et le dernier quartile d'exposition, avec une puissance de 80% et un risque d'erreur de première espèce de 5%.

Enfin la recherche des déterminants des concentrations méconiales sera réalisée à partir des indicateurs indirects d'exposition (exposition professionnelle, usage domestique, et proximité des lieux de vie aux zones agricoles, décrits en 3.1.3). Pour chaque molécule, en fonction du taux de détection, des modèles de régression linéaire ($\geq 90\%$), tobit (70-90%) ou logistique (<70%) seront mis en place.

4. Les partenaires

Equipe 1, responsable Florence Rouget, porteur du projet: Le Registre des malformations congénitales de Bretagne, pôle femme- enfant, CHU Rennes :

Elle se compose de Patrick Pladys (pédiatre néonatalogiste, PUPH, chef de pôle, codirecteur du registre des malformations), Florence Rouget (pédiatre, PH, directrice du Registre des malformations, et IR dans l'unité Inserm de l'équipe 3) et Alexis Arnaud (chirurgien pédiatrique, PHU). Le registre,

créé en 2011, a été qualifié par le Centre National des Registres en 2012, réévalué en 2015 par le Comité d'Evaluation des Registres et est membre du réseau européen des Registres de malformation EUROCAT depuis 2014. Cette équipe garantit par son expertise clinique pédiatrique et chirurgicale, la validation des diagnostics des malformations et la qualité des données médicales recueillies. Elle possède également une grande expérience dans le domaine de l'épidémiologie périnatale grâce notamment à son implication dans les études de cohorte de l'équipe 3 (Rouget 2013), mais aussi d'autres études nationales (EPIPAGE 2, Ancel 2015).

Equipe 2, responsable Barbara Le Bot: Le LERES (Laboratoire d'étude et de recherche en environnement et santé)

Le LERES est une plate-forme de recherche et développement de l'Université Sorbonne Paris Cité (USPC) et de l'Inserm (UMR Inserm 1085), spécialisée dans le champ de l'expologie humaine, via la mesure d'agents chimiques et biologiques dans les matrices environnementales (eaux, air, particules en suspension, sols, poussières, surfaces...) et l'analyse de biomarqueurs dans les matrices biologiques humaines (urine, sang, cheveux...). L'équipe sera composée de Philippe Quénel (Pr, directeur du laboratoire), Barbara Le Bot (PU, directrice adjointe recherche du LERES et responsable de l'unité Micropolluants) et Fabien Mercier (IR, responsable R&D micropolluants organiques de l'unité Micropolluants). Cette équipe a l'expérience et les capacités technologiques nécessaires à la réalisation de vastes campagnes de mesure de contaminants d'intérêt, notamment de pesticides, dans diverses matrices environnementales et biologiques (projets Plomb-Habitat, ECOS-Habitat, PEPSY, MULTIPEST...), et elle est reconnue pour ses compétences en développement analytique (Le Bot 2011 ; Mercier 2012 ; Mercier 2014). Le laboratoire est notamment accrédité par le Cofrac pour l'analyse de pesticides dans diverses matrices environnementales (<https://www.cofrac.fr/annexes/sect1/1-1951.pdf>) et est engagé dans un processus d'accréditation sur les matrices biologiques depuis 2014 (<https://www.cofrac.fr/annexes/sect8/8-3557.pdf>).

Equipe 3, responsable Cécile Chevrier : "Recherche épidémiologique sur l'environnement, la reproduction et le développement", Unité INSERM-IRSET 1085, Rennes (Luc Multigner DR2 Inserm, Cécile Chevrier CR1 Inserm, Ronan Garlantézec, MCU-PH).

Cette équipe a une grande expérience dans l'évaluation de l'impact des expositions environnementales et professionnelles à des contaminants chimiques sur la reproduction les malformations congénitales (Garlantézec 2009, Cordier 2012, Chevrier 2012), et le développement de l'enfant, grâce aux travaux qu'elle mène sur deux cohortes mère-enfant (Pélagie en Bretagne et Timoun en Guadeloupe). Elle a notamment évalué les expositions environnementales aux pesticides chez la femme enceinte et chez l'enfant de la cohorte Pélagie, à l'aide de biomarqueurs urinaires et sanguins, de questionnaires et d'indicateurs géographiques (Chevrier 2009, 2011, 2013, 2014, Petit 2012). Elle est composée d'épidémiologistes, statisticiens, pédiatre, toxicologues, expologues, géographes, et a développé de multiples collaborations nationales et internationales dans le domaine des analyses toxicologiques dans des matrices biologiques humaines.

5. Organisation du projet

Rôle de l'équipe 1 :

L'équipe Registre /CHU Rennes assure la coordination de l'ensemble du projet.

Elle assurera à partir de la base de données PENEW, la sélection des sujets éligibles et leur inclusion dans le projet MECOTOX. Elle permettra la mise à disposition de cette base de données en ce qui concerne les données cliniques, les questionnaires et les échantillons de méconium pour les sujets qui seront inclus dans le projet MECOTOX. Elle garantit le contrôle qualité de ces données, tant sur le

plan règlementaire, que sur la validation médicale des données, en particulier elle vérifie tous les diagnostics de malformation. Elle se chargera d'acheminer les échantillons de méconium du Centre de Ressources Biologiques du CHU de Rennes au LERES.

Cette phase de recueil de données et de monitoring est actuellement déjà réalisée pour 70 cas et 140 témoins. Elle se poursuivra jusqu'à obtention des 100 cas et 200 témoins (fin 2016), permettant le démarrage du projet MECOTOX en 2017.

Elle participera aux analyses statistiques, en lien avec l'équipe 3, dans laquelle le porteur du projet est impliqué.

Rôle de l'équipe 2

Le LERES sera en charge du développement de la méthode d'analyse de pesticides et métabolites de pesticides d'intérêt (6 mois) et de l'analyse des 300 échantillons de méconium (10 mois).

Rôle de l'équipe 3

L'équipe Inserm sera en charge de la gestion et du traitement statistique de données, jusqu'à la valorisation des résultats, en collaboration avec l'équipe 1. Ce rôle inclut la construction des indicateurs indirects d'exposition aux pesticides, dont la mesure de l'indicateur géographique. Cette phase pourra débuter une fois les analyses chimiques terminées et comprendra une étape de data management de la base de données (6 mois) puis les analyses statistiques incluant la construction d'indicateurs géographiques et la rédaction de 2 articles scientifiques (1 an).

Le calendrier est joint au présent projet.

La faisabilité du projet repose ainsi sur plusieurs points forts :

- Le recueil des données des cas et témoins en grande partie déjà réalisée, et consolidé et qui sera terminé au moment du démarrage du projet MECOTOX.
- Une phase pilote de préparation des échantillons de méconium réalisée avec succès
- Une revue de la littérature déjà effectuée
- Une grande expertise des partenaires au niveau à la fois analytique et épidémiologique dans le champ étudié

6. Actions de valorisation

Le projet sera valorisé par des communications scientifiques dans des congrès nationaux et internationaux et par des articles scientifiques soumis à des revues avec comité de lecture, notamment :

- un article sur la mise au point de la méthode analytique
- un article sur l'étude des déterminants des concentrations dans le méconium (à partir des données du questionnaire, de la géolocalisation)
- un article sur le risque d'hypospades en lien avec Les concentrations de pesticides dans le méconium.

Les résultats feront également l'objet de communication auprès des professionnels de la périnatalité, notamment via les réseaux de périnatalité dans lesquels le porteur du projet est impliqué (Réseau périnatal Bien Naitre en Ille et Vilaine), ainsi qu'auprès du grand public.

7. Considérations légales et éthiques

Le projet MECOTOX utilise les échantillons collectés dans le cadre de l'étude PENEW, recherche biomédicale promue par le CHU de Rennes, ayant obtenu les autorisations suivantes :

- CPPP Ouest V (Rennes) : avis favorable le 6 septembre 2011
- ANSM (référence : B110827-40) : autorisation du 1er juillet 2011
- CCTIRS (dossier n° 11.590) : avis favorable le 27 octobre 2011
- CNIL : autorisation n° 911526 du 3 juillet 2012

Ces instances ont validé les formulaires d'information et de consentement signés par les familles lors de la collecte du méconium.

MECOTOX sera déposé comme une étude ancillaire de PENEW, via une modification substantielle soumise simultanément à ces mêmes instances.

8. Références

Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, Bérubé A, Yang Q, Liu S, Krewski D. Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2008; 11: 373-517.

Toppari J and al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect.* 1996; 10 4(Suppl 4): 741–803.

Fernandez MF, Olmos B, Granada A, et al. Human Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals and Prenatal Risk Factors for Cryptorchidism and Hypospadias: A Nested Case–Control Study. *Environmental Health Perspectives.* 2007; 115 (Suppl 1): 8-14.

Rocheleau CM, Romitti PA, Dennis LK. Pesticides and hypospadias: a meta-analysis. *J Pediatr Urol.* 2009; 5 : 17-24.

Gaspari L, Paris F, Jandel C, Kalfa N, Orsini M, Daurès JP, Sultan C. Prenatal environmental risk factors for genital malformations in a population of 1442 French male newborns: a nested case-control study. *Hum Reprod.* 2011; 26: 3155-62.

Carmichael SL, Yang W, Roberts EM, Kegley SE, Wolff C, Guo L, Lammer EJ, English P, Shaw GM. Hypospadias and residential proximity to pesticide applications. *Pediatrics.* 2013; 132:e1216-26.

Andersen HR, Schmidt IM, Grandjean P, Jensen TK, Budtz-Jørgensen E, Kjaerstad MB, Baelum J, Nielsen JB, Skakkebaek NE, Main KM. Impaired reproductive development in sons of women occupationally exposed to pesticides during pregnancy. *Environ Health Perspect.* 2008 ; 116: 566-72.

Gabel P, Jensen MS, Andersen HR, Baelum J, Thulstrup AM, Bonde JP, Toft G. The risk of cryptorchidism among sons of women working in horticulture in Denmark: a cohort study. *Environ Health.* 2011; 10: 100.

Rocheleau CM, Romitti PA, Sanderson WT, Sun L, Lawson CC, Waters MA, Stewart PA, Olney RS, Reefhuis J. Maternal occupational pesticide exposure and risk of hypospadias in the National Birth Defects Prevention Study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2011 ; 91: 927-36.

Ostrea EM Jr. and Bielawski DM. Meconium analysis to detect fetal exposure to neurotoxicants. *Arch Dis Child* 2006; 91: 628–629.

Moore C, Negrusz A, Lewis D. Determination of drugs of abuse in meconium. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1998; 713 :137-46.

Morini L, Groppi A, Marchei E, Vagnarelli F, Algar OG, Zuccari P, Pichini S. Population Baseline of Meconium Ethyl Glucuronide and Ethyl Sulfate Concentrations in Newborns of Nondrinking Women in 2 Mediterranean Cohorts. *Ther Drug Monit.* 2010 ;32:359-63.

Ostrea EM Jr., Bielawski DM, Posecion NC Jr., Corrion M, Villanueva-Uy E, Jin Y, Janisse JJ, and Ager JW. A comparison of infant hair, cord blood and meconium analysis to detect fetal exposure to environmental pesticides. *Environ Res* 2008; 106 : 277–283.

Berton T, Mayhoub F, Chardon K, Duca RC, Lestremau F, Bach V, Tack K. Development of an analytical strategy based on LC-MS/MS for the measurement of different classes of pesticides and their metabolites in meconium: application and characterisation of foetal exposure in France. *Environ Res.* 2014; 132: 311-20.

Bergman JE, Loane M, Vrijheid M, Pierini A, et al. Epidemiology of hypospadias in Europe: a registry-based study. *World J Urol.* 2015; 33: 2159-67.

Chevrier C, Petit C, Limon G, Monfort C et al. Biomarqueurs urinaires d'exposition aux pesticides des femmes enceintes de la cohorte Pélagie réalisée en Bretagne, France (2002- 2006). *BEH hors série ;* 16 juin 2009 : 23-27.

Viel JF, Warembourg C, Le Maner-Idrissi G, Lacroix A, Limon G, Rouget F, Monfort C, Durand G, Cordier S, Chevrier C. Pyrethroid insecticide exposure and cognitive developmental disabilities in children: The PELAGIE mother-child cohort. *Environ Int* 2015; 82: 69-75.

EUROCAT Guide 1.3. (2005) Instructions for the registration and surveillance of congenital anomalies. <http://www.eurocatnetwork.eu/content/EUROCAT-Guide-1.3.pdf>. Accessed 2014)

Garlantezec R, Monfort C, Rouget F, Cordier S. Maternal occupational exposure to solvents and congenital malformations: a prospective study in the general population. *Occup Environ Med* 2009; 66: 456 - 63. Braun J, et al. Gestational Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals and Reciprocal Social, Repetitive, and Stereotypic Behaviors in 4- and 5-Year-Old Children: The HOME Study. 2014; 112: 513-20.

Rouget F, Lebreton J, Kadhel P, Monfort C, Bodeau-Livinec F, Janky E, Multigner L, Cordier S. Medical and sociodemographic risk factors for preterm birth in a French Caribbean population of African descent. *Matern Child Health J.* 2013; 17: 1103-11.

Ancel PY, Goffinet F; EPIPAGE-2 Writing Group. Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011: results of the EPIPAGE-2 cohort study. *JAMA Pediatr.* 2015; 169: 230-8.

Le Bot B, Arcelin C, Briand E, Glorennec P, Sequential digestion for measuring total and leachable lead in a single sample of dust or paint chips. *Journal of Environmental Science and health, Part* 2011; 46: 63-69.

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: 107-114.

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: 101-111.

Cordier S, Garlantézec R, Labat L, Rouget F, Monfort C, Bonvallot N, Roig B, Pulkkinen J, Chevrier C, Multigner L. Exposure during pregnancy to glycol ethers and chlorinated solvents and the risk of congenital malformations. *Epidemiology* 2012; 23 : 806-12.

Chevrier C, Petit C, Philippat C, Mortamais M, Slama R, Rouget F, Calafat AM, Ye X, Silva MJ, Charles MA, Cordier S. Maternal urinary phthalates and phenols and male genital anomalies. *Epidemiology* 2012; 23: 353-356.

Chevrier C, Limon G, Monfort C, Rouget F, Garlantézec R, Petit C, Durand G, Cordier S. Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environ Health Perspect* 2011; 119: 1034-41.

Chevrier C, Warembourg C, Gaudreau E, Monfort C, Le Blanc A, Guldner L, Cordier S. Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls, seafood consumption, and time-to-pregnancy. *Epidemiology*. 2013 Mar;24(2):251-60.

Chevrier C, Serrano T, Lecerf R, Limon G, Petit C, Monfort C, Hubert-Moy L, Durand G, Cordier S. Environmental determinants of the urinary concentrations of herbicides during pregnancy: the PELAGIE mother-child cohort (France). *Environ Int*. 2014; 63: 11-8.

Petit C, Blangiardo M, Richardson S, Coquet F, Chevrier C, Cordier S. Association of environmental insecticide exposure and fetal growth with a Bayesian model including multiple exposure sources: the PELAGIE mother-child cohort. *Am J Epidemiol* 2012; 175: 1182-90.