



29. juni 2020
Your ref: shobe
DTU DOCX: 19/1024816
shobe

Vurdering af artiklen “Maternal urinary concentrations of pyrethroid and chlorpyrifos metabolites and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) symptoms in 2-4-year old children from the Odense Child Cohort”

Artiklen, “Maternal urinary concentrations of pyrethroid and chlorpyrifos metabolites and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) symptoms in 2-4-year old children from the Odense Child Cohort” af Dalsager et al. blev publiceret i Environment Research, 178 (2019). Undersøgelsen er vurderet i forhold til de principper, der er opstillet i:

- Anbefalinger for brug af epidemiologiske undersøgelser i risikovurdering af pesticider, Miljø- og Fødevareministeriet, januar 2019, og
- Notat 1 fra arbejdsgruppen vedr. børneleukæmi og pesticider, Miljø- og Fødevareministeriet, januar 2019

Beskrivelse af artiklen:

Formålet med studiet var at undersøge sammenhængen mellem potentiel eksponering (før fødsel i uge 28) overfor pyrethroider og chlorpyrifos/chlorpyrifos-methyl og tegn på ADHD hos 2-4-årige børn.

Undersøgelsen er et prospektivt kohorte design baseret på Odense Børne Kohorten. Urin blev indsamlet i uge 28 hos 1207 kvinder (ud af 2874 indrullet i studiet) og man målte indholdet af metabolitter af pyrethroider og en metabolit af chlorpyrifos//chlorpyrifos-methyl. 948 børn blev undersøgt af forældrene ved ”Child Behaviour Check List for børn på 1,5-5 år (CBCL: 1.5-5). Det er en undersøgelse, der kan give et score for ADHD problemer. Man analyserede forskelle i ADHD problem scores udtrykt ved ratioen mellem den forventede score for eksponerede grupper ved en fordobling af eksponeringen og Odds Ratio (OR) for at score tilsvarende eller over 90-percentilen i CBCL: 1,5-5 udfaldet i forhold til urin koncentrationer af metabolitterne. Man analyserede data statistisk ved negativ binomial regression (præsenteret ved ratioer) og logistisk regression (præsenteret ved Odds Ratio (OR)).

Der blev justeret for uddannelsesniveau hos mødre, psykiatriske diagnoser hos forældre, alder hos børn og køn.

Man målte på følgende metabolitter i urinen:

TCPY: metabolit af chlorpyrifos og chlorpyrifos-methyl.



3-PBA: generel metabolit af pyrethroider eksempelvis cypermethrin, deltamethrin, permethrin, lambda-cyhalothrin, tau-fluvalinat, esfenvalerat og fenprothrin.

Cis- og trans DCCA: metabolitter er cis- og trans-isomererne af permethrin, cypermethrin og cyfluthrin.

4-F-3PBA: metabolit af cyfluthrin

Cis-DBCA: metabolit af deltamethrin

Følgende blev detekteret i urinprøverne.

TCPY: 90% af prøverne

3-PBA: 94% af prøverne

Trans-DCCA: 11% af prøverne

Cis-DCCA: 3% af prøverne

Cis-DBCA: 3% af prøverne

4-F-3PBA: 0,1% af prøverne

Forventet forøget ADHD score hos børn i forhold til en fordobling af metabolit i urin analyseret ved negativ binomial regression:

- 3-PBA: ratio på 1,03 (1,00,1,07) for begge køn og 1,06 (1,00, 1,12) for piger alene, mens for drenge var ratioen 1,02 (0,98, 1,06). Det vil sige at en fordobling af 3-PBA i moderens urin var associeret med en 3 % forøgelse af ADHD score for begge køn. Stigningen var signifikant for begge køn og piger, men ikke drenge.
- For de øvrige metabolitter sås ingen signifikante fund alene.
- Når der var samtidig eksponeringer for både TCPY og 3-PBA (over medianen) sås en 20% forøget score for begge køn – ratio 1,2 (1,04, 1,38) og for drenge med en ratio på 1,22 (1,01, 1,48), mens for piger var ratioen 1,15 (0,94, 1,42) Det vil sige at når 3-PBA og TCPY i moderens urin begge var over medianen sås var det associeret med en 20 % forøgelse af ADHD score for begge køn. Stigningen var signifikant for begge køn og drenge, men ikke piger.

Når man analyserede OR for at score højere end 90-percentilen i CBCL:1,5-5 i forhold til eksponeringstertiler ved logistisk regression fandt man:

- 3-PBA: Odds ration (OR) 1.13 (1.04, 1,38) for begge køn med en p-trend på 0,007 (der sås ingen signifikant p-trend ved den binomiale regression). Det vil sige at en fordobling af PBA koncentration i mødrenes urin var associeret med 13% højere odds for at opnå en ADHD score på over 90% percentilen. For piger og drenge alene sås ingen signifikant forøgede OR'er.
- Trans-DCCA: OR 1,76 (1,08,2,86) for begge køn, 2,15 (1,11, 4,15) for piger og 1,97 (1,1, 3,52) for drenge.
- For de øvrige metabolitter sås ingen signifikante fund alene.
- TCPY og 3-PBA ved samtidig eksponering: OR på 1.98 (1.26, 3,11) for begge køn, mens for piger sås en OR på 1,33 (0,76, 2,32) og for drenge en OR på 1,86 (1,03, 3,39).

De eneste fund, der var signifikante ved begge statistiske analyser af data var en ko-eksponering over for 3-PBA og chlorpyrifos/chlorpyrifos-methyl for begge køn og ko-eksponering overfor pyrethroider og chlorpyrifos (over medianen) hos begge køn og hos drenge.

Følgende begrænsninger i undersøgelsen diskuteres af forfatterne:

- Kun 43% af kvinderne af mulige kvinder var med i Odense børnekohorten var med (2874 kvinder) og at disse var ældre, flere var ikke-rygere og havde ikke født før, end de kvinder som ikke var inkluderet i undersøgelsen.
- CBCL: 1,5-5 spørgeskemaet var kun udfyldt for 77% af børnene, hvorved det ikke kan udelukkes et bias ift. ikke at få udfyldt skemaet og adfærdsproblemer.
- Urinmetabolitter blev kun målt i 1207 kvinder (75% af kvinderne i kohorten)
- De 948 mor-barn par med urinmålinger og ADHD måling var generelt ældre, og der var flere ikke-rygere end de øvrige kvinder i Odense Børne-kohorten.
- Eksponeringen er bestemt ved en enkelt spot-urin.
- ADHD scores var lavet af forældre, og ADHD evaluering i 2-4 års alderen er vanskeligt, hvorved misklassificering ikke kan udelukkes.
- Der er ikke taget højde for konfounding fra), livsstil, adfærsfaktorer og andre eksponeringer (eksempelvis bly og kviksølv). Forfatterne nævner dog i diskussionen at residual confounding for mødrenes uddannelsesniveau ikke kan udelukkes.
- Det kan ikke udelukkes at senere eksponering end uge 28, eksempelvis efter fødsel kan bidrage til eller forårsage associationerne.

Det konkluderes i artiklen, at der er en association mellem ADHD tegn ved 2-4- års alderen og eksponering overfor pyrethroider, og at det giver anledning til bekymring.

Der sås ingen association mellem chlorpyrifos/chlorpyrifos-methyl eksponering og tegn på ADHD.

Vurdering

Ud over de styrker og svagheder, der diskuteres af forfatterne, noteres følgende.

Styrker:

- Et prospektivt kohorte studie, som har en væsentlig styrke, at ved begyndelsen af studiet, har deltagerne ikke effekten, som der undersøges for (ADHD-tegn).
- Der er målt direkte eksponering for pesticiderne ved måling af deres metabolitter.

Svagheder:

- Associationen findes ved eksponering over for den generiske metabolit 3-PBA. Dermed ved man ikke hvilke konkrete pyrethroider, man er eksponeret overfor. Der er stor forskel på potensen af pyrethroider for effekter på nervesystemet. NOAELs kan variere fra 0,5 mg/kg til 150 mg/kg (EFSA CAG scientific report, 2019).
- TCPY er også en metabolit af chlorpyrifos-methyl. Chlorpyrifos-methyl er mindre potent end chlorpyrifos ift. neurotoksiske effekter. Det er vist, at der er en svag korrelation mellem målinger af TCPY i enkelt spot-urin målinger hos eksponerede over tid (Meeker et al. 2005).
- Generelt har pyrethroider en kort halveringstid i kroppen og dermed er der også betydelig usikkerhed ved eksponeringsestimater baseret på enkelt spot-urin målinger (Egeghy et al 2011).

En vurdering af undersøgelsen ift. de kvalitetsparametre, der er opstillet i notat 1 fra arbejdsgruppen vedr. børneleukæmi og pesticider, Miljø- og Fødevarerministeriet, januar 2019, resulterer i at undersøgelsen kan karakteriseres som følger i forhold til pålidelighed:

- Det er et prospektivt kohorte studie – høj pålidelighed
- Rekruttering ved frivillig deltagelse – middel pålidelighed
- Direkte bestemmelse af eksponeringen med validerede metoder (dog kun ved et tidspunkt og dermed forbundet med en del usikkerhed) – lav pålidelighed
- Udfaldsvurdering er ved selv-rapportering og uden bekræftet diagnose – lav pålidelighed
- Nogen kontrol af konfundere ved basale regressionsanalyser inkluderende justering for nogle af kovariaterne a priori. Det er en svaghed at eksponering over for stoffer med velkendte effekter på udvikling af nervesystemet ikke er bestemt (eksempelvis tungmetaller) – middel/lav pålidelighed
- Rapportering af undersøgelsen, hvor en plausibel biologisk mekanisme er givet, men det er ikke begrundet hvorfor præcis de to anvendte statistiske metoder er anvendt og ikke andre. Fortolkningen af resultaterne er mindre fyldestgørende og har ikke et entydigt fokus på ADHD, men diskuterer også associationer mellem pesticideksponering og autisme og andre udviklingseffekter – middel pålidelighed

Den samlede vurdering af undersøgelsen er at den har lav/middel pålidelighed.

Vurdering af evidensen for en årsagssammenhæng i henhold til notat 1 fra arbejdsgruppen vedr. børneleukæmi og pesticider, Miljø- og Fødevarerministeriet, januar 2019.

- Det er relativt svage statistiske associationer og de er ikke konsistente mellem de to statistiske metoder, men da det er en relativ stor kohorte, kan signifikante associationer ses med relativt smalle konfidensintervaller.
- I og med det er et prospektivt kohorte studie er der temporalitet.
- En del insekticider, herunder pyrethroider og organofosfater, er neurotoksiske, Pyrethroider binder til spændingsafhængige natrium kanaler og derved sker en inaktivering, mens organofosfater hæmmer acetylcholin-esterasen.
- De udførte regulatoriske DNT studier for pyrethroider er ved administration via foderet (US-EPA 2010). I de 6 beskrevne studier DNT studier sås der nedsat legemsvægt, nedsat tilvækst, nedsat vægt af hjernen og tegn på akut neurotoksicitet ved højere doser, men generelt ikke specifikke DNT effekter (eksempelvis indlæring, hukommelse, reaktionsevne, bevægelse/aktivitet). Dog konkluderes det af US-EPA at i det hele taget er foderstudier ikke egnede til DNT farekarakterisering grundet pyrethroiders kinetik (kort halveringstid).
- DNT effekter af chlorpyrifos/chlorpyrifos-methyl er lige blevet vurderet i EU. For chlorpyrifos DNT studiet sås effekter karakteriseret ved effekter på lillehjernen ved den laveste dosis testet, og endvidere var dosis lavere end hvor der sås hæmning af acetylcholin-esterasen (EFSA 2019). For chlorpyrifos-methyl sås ingen DNT effekter, men da studiet havde væsentlige mangler, blev det konkluderet, at der ikke kunne sættes et NOAEL på den baggrund (EFSA 2019).

- I forhold til andre epidemiologiske undersøgelser er der fornylig publiceret et review (Roberts 2019) over associationer mellem pesticider og ADHD. Der er ikke rapporteret andre prospektive studier om sammenhæng mellem pyrethroider og ADHD, men der er rapporteret en sammenhæng i to undersøgelser fra NHANES (National Health And Nutrition And Examination Survey, US), hvor designet var tværsnitsundersøgelser, mens en anden NHANES tværsnitundersøgelse så ingen sammenhæng.
- For chlorpyrifos er der fundet en sammenhæng i et andet prospektivt kohorte studie.
- Den biologisk gradient er vanskelig at bedømme, idet der er en høj usikkerhed forbundet ved eksponeringsestimater baseret på enkelt spot-urin måling, men dog ses associationen kun ved den høje tertiel.
- Der er ikke blevet publiceret grundige analyser af mulige AOP/MOA'er i forhold til udfaldet ADHD.

Konklusion:

Samlet vurderes det, at undersøgelsen har lav/middel pålidelighed. Svagheder er, at der hersker stor usikkerhed i forhold til eksponeringen overfor pyrethroider og chlorpyrifos/chlorpyrifos-methyl og udfaldet (ADHD-symptomer) er bestemt ved tidlig selv-rapportering og ikke en egentlig diagnose. Styrken er at undersøgelsen er en prospektiv kohorte undersøgelse og der er også nogen evidens for en årsagssammenhæng. I forhold til chlorpyrifos bekræfter undersøgelsen ikke et tidligere studier, hvor der fandtes en sammenhæng i et prospektiv kohorte studie. For pyrethroiderne, målt ved 3-PBA og dermed ikke specifikke pyrethroider, bekræftes resultaterne af tidligere tværsnitsundersøgelser. Den stærkeste sammenhæng ses ved samtidig eksponering for 3-PBA og chlorpyrifos/chlorpyrifos-methyl.



References

EFSA: Updated statement on the available outcomes of the human health assessment in the context of the pesticides peer review of the active substance chlorpyrifos-methyl. *EFSA Journal* 2019;17(11):5908.

EFSA: Updated statement on the available outcomes of the human health assessment in the context of the pesticides peer review of the active substance chlorpyrifos. *EFSA Journal* 2019;17(11):5908.

Egeghy PP, Cohen Hubal EA, Tulse NS, et al. Review of pesticide urinary biomarker measurements from selected US EPA children's observational exposure studies. *Int J Environ Res Public Health*. 2011;8(5):1727–1754. d

Meeker JD¹, Barr DB, Ryan L, Herrick RF, Bennett DH, Bravo R, Hauser R. Temporal variability of urinary levels of nonpersistent insecticides in adult men. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 2005 May;15(3):271-81.

Roberts et al. Children's low-level pesticide exposure and associations with autism and ADHD: a review. *Pediatric Research* (2019) 85:234–241.

Scientific Report on Establishment of cumulative assessment groups of pesticides for their effects on the nervous system, EFSA 2019.

US-EPA memorandum: Pyrethroids: Evaluation of data of development neurotoxicity studies and considerations on comparative assessment. 2010.

Barr DB, Wang RY, Needham LL. 2005. Biologic monitoring of exposure to environmental chemicals throughout the life stages: Requirements and issues for consideration for the national children's study. *Environ Health Perspect* 113:1083-1091.