

25

Effets des mélanges de pesticides

Un des enjeux majeurs de la toxicologie environnementale concerne la problématique des effets pharmaco-toxicologiques des mélanges de substances chimiques auxquels les agriculteurs ou la population générale peuvent être exposés au travers de leur alimentation et de leur environnement au sens large. La question des faibles doses et de la chronicité des expositions en constitue un autre, tout aussi important (Kortenkamp, 2008 ; *European Commission*, 2011). Cela est bien illustré par les pesticides qui sont retrouvés sous forme de « cocktails » dans la majorité des denrées alimentaires mais également dans tous les milieux naturels, où des molécules, même interdites depuis longtemps, sont encore détectées. Ces cocktails résultent, d'une part de l'usage de nombreuses molécules différentes selon les cultures traitées et les ravageurs ciblés, d'autre part, de l'association de ces produits entre eux et avec d'autres molécules dites phytoprotectrices⁸⁶ ou synergistes⁸⁷ pour une meilleure efficacité. Ajoutons à cela que ces multiples résidus de molécules à usage agricole sont combinés à d'autres produits chimiques de nature extrêmement variée (PCB, dioxines, dérivés du plastique, métaux lourds, solvants...).

Établies par des instances internationales ou nationales, les valeurs toxicologiques de référence (VTR) constituent des indices du lien entre une exposition chez l'homme à une substance toxique et la survenue d'un effet nocif. La détermination des VTR est toujours fondée sur des évaluations toxicologiques de substances chimiques prises individuellement. Les indices de risque sanitaire qui en découlent sont de ce fait difficilement extrapolables à la réalité des expositions humaines, puisque selon leurs concentrations, leurs voies de biotransformation, leurs cibles cellulaires et moléculaires respectives, les xénobiotiques en mélange peuvent interagir et conduire à des impacts sanitaires non attendus (perturbations hormonales, du système nerveux central...). En effet, la toxicité d'un mélange de produits ne peut être toujours prédite à partir de celle de chacun de ses composants. Des effets additifs (somme des effets des molécules elles-mêmes), antagonistes (réduction des effets par un ou plusieurs produits), potentialisateurs (augmentation des effets d'un produit par un ou plusieurs autres) ou synergiques (un

86. Activation du métabolisme de protection chez la plante

87. Blocage du mécanisme de détoxification chez l'insecte

ou plusieurs produits augmentent très fortement l'effet des autres) peuvent survenir. Ces interactions sont de nature :

- toxicocinétique, lorsqu'une molécule affecte les processus pharmacocinétiques (absorption, distribution, métabolisation et élimination) de(s) l'autre(s). Par exemple, la molécule A est susceptible d'accroître la toxicité de la molécule B en inhibant son transport et/ou sa biotransformation ; A peut être protecteur vis-à-vis de la toxicité de B, en bloquant une de ses voies de bioactivation métabolique ou de transport; A peut protéger contre B en stimulant son métabolisme ou son efflux ; A peut augmenter la toxicité de B en induisant son activation métabolique ou son influx ;
- pharmacotoxicologique, lorsqu'un composé impacte l'activité biologique de l'autre. Les produits peuvent entrer en compétition vis-à-vis de l'activation ou de l'inhibition de voies de signalisation gouvernant l'homéostasie cellulaire ou de l'organisme (interactions croisées avec des récepteurs membranaires, cytosoliques ou nucléaires, facteurs de transcription...). Ces interférences signalétiques peuvent modifier la réponse hormonale, l'équilibre des voies de prolifération, différenciation, survie/mort, et/ou réparation cellulaire...

Bien que cette problématique soit d'importance majeure, le nombre considérable de xénobiotiques environnementaux, ajouté à leurs effets combinés, rend impossible toute évaluation toxicologique réglementaire des mélanges. Compte tenu de ce déficit de données expérimentales, il est nécessaire de modéliser leurs impacts pharmaco-toxicologiques potentiels à partir des données disponibles sur les substances testées isolément.

Pour ce faire, il est en premier lieu nécessaire de mettre en place une méthode statistique, permettant de définir les principaux « cocktails » de pesticides auxquels la population est principalement exposée par voie alimentaire ou environnementale au sens large. La définition de ces mélanges est effectuée en croisant les données de surveillance des résidus de pesticides dans ces milieux (contamination) aux données d'exposition de la population à l'ensemble de ces résidus, mais également en tenant compte de leur imprégnation dans l'organisme (dosages sanguins, urinaires, dans différents tissus de bioaccumulation de type graisseux notamment...). En second lieu, il faut procéder à des études toxicologiques, si possible sur des modèles biologiques pertinents au regard de la réalité physiologique humaine, visant à caractériser la nature et les mécanismes de l'effet « mélange » par rapport à celui des produits pris séparément.

À cette fin, les études réalisées à ce jour en santé humaine, utilisent majoritairement des modèles *in vitro* d'expression hétérologue capables de mimer des perturbations physiologiques, pouvant générer des résultats rapidement et à haut débit. Les systèmes rapporteurs qui permettent de quantifier des effets de transactivation de récepteurs nucléaires ou cytosoliques, susceptibles de modifier *in fine* la physiologie humaine, sont à cet égard les plus communément utilisés : ER (*estrogen receptor*), AR (*androgen receptor*), CAR (*constitutive*

androstane receptor), PXR (*pregnan X receptor*), AhR (*aryl hydrocarbon receptor*) sont ceux principalement étudiés dans la littérature. D'un point de vue pratique, après avoir identifié les molécules d'intérêts (cf. ci-dessus), il s'agit d'établir pour chacune d'entre-elles, une relation dose-réponse vis-à-vis de la cible pharmacologique sélectionnée.

Sur la base des méthodes de modélisation décrites et des avancées dans leurs traitements statistiques, différents modèles permettant de qualifier les interactions des xénobiotiques au sein d'un mélange, peuvent être appliqués. Les deux modèles mécanistiques généralement pris en compte sont les suivants :

- le modèle de concentration-addition, où l'on considère que les molécules agissent selon un même mécanisme d'action (par exemple, vis-à-vis d'un récepteur membranaire, nucléaire ou hormonal, d'une voie de signalisation spécifique...) et où chaque produit peut se substituer à un autre ;
- le modèle d'action indépendante, dans lequel les différents produits du mélange présentent des cibles cellulaires et/ou moléculaires distinctes (modèle souvent plus adapté aux analyses de viabilité ou de perturbation globale d'un phénotype cellulaire).

L'étape de modélisation des données toxicologiques expérimentales est, comme évoqué précédemment, un point crucial dans cette analyse des effets additifs, synergiques ou antagonistes potentiels, résultant du mélange des molécules sélectionnées. Cette démarche théorique est indispensable car il est irréaliste d'évaluer l'effet mélange des pesticides au moyen des méthodes traditionnelles, *in vitro*, et *a fortiori in vivo*. Rappelons que les procédures actuelles d'évaluation de la toxicité des substances actives sont fondées sur une évaluation des pesticides pris individuellement, sans tenir compte des effets combinés potentiels. Seules les substances actives ayant le même mécanisme d'action toxique (notamment les triazoles...), font l'objet d'une évaluation du risque cumulé tout en faisant abstraction de possibles interactions entre substances.

Effets des mélanges : approche expérimentale

Il est difficile de mettre en évidence une relation entre mélanges de pesticides et impact sur la santé pour plusieurs raisons : la variabilité de la composition des mélanges au cours de la vie professionnelle et au cours de l'année ; l'interaction entre les substances actives.

S'il reste difficile d'évaluer expérimentalement toutes les combinaisons possibles, il est cependant indispensable d'évaluer les effets de mélanges représentatifs, établis sur la base réelle de mesures d'exposition.

La plupart des études sur les effets des mélanges ont été réalisées dans le cadre des travaux relatifs à la sécurité alimentaire. Elles concernent des mélanges

de pesticides retrouvés fréquemment sur les fruits et légumes les plus consommés et testés à de faibles doses. Ces mélanges représentatifs de l'exposition du consommateur ne correspondent pas forcément à l'exposition du professionnel pour lequel la voie cutanée est la source d'exposition la plus plausible.

Il a été admis pendant longtemps que les composés présents aux doses correspondant à leur NOAEL (*No Observable Adverse Effect Level*) et qui agissent *via* des mécanismes d'action différents, ne pouvaient pas exercer d'effets même lorsqu'ils étaient présents en mélange. Cependant, de nombreuses études expérimentales relatives aux perturbateurs endocriniens et à la fonction de reproduction, montrent que certains mélanges :

- peuvent exercer des effets marqueurs de perturbations endocriniennes à des doses inférieures à leur NOAEL, que leur mécanisme d'action soit similaire ou différent ;
- peuvent exercer des effets cumulatifs et/ou dépendants de la dose lorsque les composés du mélange ont pour cible un même tissu.

Ainsi, l'exposition à des mélanges induit des effets variant selon les composés testés, le tissu, les paramètres biologiques ou la fonction physiologique étudiés. Quelques exemples sont présentés ci-dessous pour illustrer ces propos.

Effet synergique : le mélange a un effet supérieur à celui cumulé de chacun des pesticides

L'exposition d'amphibiens à un mélange de 9 pesticides à de très faibles doses (0,1 ppb⁸⁸) altère la fonction immunitaire, la différenciation sexuelle et le développement de façon plus importante que ne le font les produits seuls. Mais, dans cette étude la question reste posée de savoir si un ou plusieurs des composés du mélange contribue à l'effet (Hayes et coll., 2006).

L'influence des mélanges a également été testée sur des modèles de rongeurs ou de poissons en se focalisant principalement sur les conséquences au niveau d'un système biologique comme le système nerveux et le système reproducteur. Ainsi, l'exposition à un mélange de trois insecticides organophosphorés (dichlorvos, diméthoate et malathion) pendant la période périnatale chez des rats, induit des effets sur la fonction reproductive des descendants. Le mélange exerce des effets différentiels selon la dose testée sur plusieurs paramètres du système reproducteur (poids des organes reproducteurs et taux d'hormones sexuelles) alors qu'isolément ces pesticides n'exercent aucun effet sur ces paramètres (Yu et coll., 2011). Certaines combinaisons binaires d'organophosphorés peuvent exercer chez le saumon des effets neurotoxiques additifs synergiques mais à de fortes concentrations (proches de la dose létale) (Laetz et coll., 2009).

Sur le plan neuronal ou comportemental, le paraquat (herbicide) (0,3 mg/kg) et le manèbe (fongicide de la famille des thiocarbamates) (1 mg/kg), deux substances actives qui affectent le nombre de neurones dopaminergiques lors d'une exposition postnatale des souris, ont des effets plus importants lorsqu'ils sont administrés en mélange (Cory-Slechta, 2005). De même, l'activité motrice des souris est altérée uniquement en présence du mélange paraquat et manèbe (5 à 10 et 15 à 30 mg/kg respectivement) (Thiruchelvam et coll., 2000). L'endosulfan (25 mg/kg) et le méthyl parathion (2 mg/kg), deux insecticides, l'un organochloré, l'autre organophosphoré, exercent des effets plus importants sur le comportement des rats lorsque ces composés sont administrés en mélange (injection sous-cutanée pendant 10 jours) (Castillo et coll., 2002).

Les mélanges peuvent également influencer certains processus hématopoïétiques ou inflammatoires ; ainsi l'administration par voie intrapéritonéale chez la souris d'un « cocktail » d'herbicides appartenant à deux familles chimiques (propanil et 2,4-D dans un rapport 1/1) entraîne une modification de l'hématopoïèse centrale aux doses de 50 à 200 mg/kg. Administré isolément, chacun de ces pesticides n'exerce cet effet qu'à dose élevée. Ainsi, la co-administration de ces deux pesticides, chacun à la dose de 50 mg/kg, induit un effet plus important que l'administration d'un seul pesticide à la dose de 100 mg/kg, ce qui montre que ce n'est pas forcément l'effet dose qui est observé avec le mélange (De la Rosa et coll., 2003). L'administration sous-cutanée de dieldrine, insecticide organochloré (10 à 20 mg/kg) pendant 7 jours et d'atrazine (herbicide de la famille des triazines) le 7^e jour à 100-200 mg/kg, entraîne une inhibition de la production d'IL-6 et d'IL-12 dans la cavité intra-péritonéale, une inhibition de l'activation de NFκB, cJun et AP1. L'inhibition de la production d'IL-6 et de l'activation de NFκB est plus que supérieure à un effet additif (Pruett et coll., 2006).

Effet synergique : le mélange a un effet supérieur à celui cumulé de chacun des pesticides selon le paramètre testé d'une fonction physiologique donnée

Key et coll. (2007) étudient la toxicité d'un mélange de trois pesticides, un herbicide et deux insecticides (atrazine, fipronil et imidaclopride) sur la larve de crevette d'herbier. Lorsqu'ils sont administrés isolément, le fipronil est le plus toxique et l'atrazine ne l'est pas du tout. En combinaison binaire avec l'atrazine, la toxicité de chacun des pesticides n'évolue pas. De même, on n'observe pas de toxicité plus qu'additive avec le mélange fipronil et imidaclopride. Mais lorsque l'atrazine est combinée aux deux autres insecticides (fipronil et imidaclopride), le mélange présente une toxicité supérieure à la toxicité additive de ces deux insecticides.

Perobelli et coll. (2010) montrent qu'un mélange de 5 insecticides (dicofol, dieldrine, dichlorvos, endosulfan et perméthrine) aux doses NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*), administré par l'alimentation chez le rat mâle, exerce un effet sur certains paramètres de la reproduction (motilité des spermatozoïdes) alors que l'administration isolée de chacun des insecticides n'affecte pas ce paramètre. Christiansen et coll. (2009) rapportent les mêmes conclusions à propos d'un autre type de mélange (phtalate et fongicides). Ces études montrent un effet des faibles doses des mélanges qui peut être synergique ou additif en fonction du paramètre étudié de la différenciation sexuelle. Blystone et coll. (2009) observent des effets cumulatifs ou antagonistes selon la fonction ou le paramètre étudié après exposition des rats mâles à deux fongicides, la vinclozoline (fréquemment utilisée dans l'industrie viticole), et l'iprodione pendant un mois. Les résultats montrent que ces fongicides agissent sur des cibles communes d'une manière tissu spécifique quand ils sont co-administrés au rat mâle pubère. Yu et coll. (2011) montrent que l'exposition (gavage) à un mélange d'organophosphorés (dichlorvos, diméthoate et malathion) en période périnatale chez le rat femelle entraîne des effets délétères au niveau de l'endomètre chez les mères et au niveau des fonctions reproductives de la descendance (poids des organes, taux d'hormones sexuelles, taux de naissances vivantes...). Aucun effet significatif sur le système reproducteur n'est observé avec chacun de ces pesticides pris individuellement. Greenlee et coll. (2004) ont comparé l'effet de plusieurs pesticides communément utilisés dans le mid-ouest des États-Unis (herbicides, insecticides, fongicides) et fertilisants, seuls ou en mélange, sur le développement de la pré-implantation d'embryon de souris exposés 96 heures *in vitro*. La grande majorité des agents augmente l'apoptose alors que seulement 3 sur 13 agissent sur le nombre de blastocytes. Les effets d'un mélange dépendent de sa composition en pesticides. Certaines compositions augmentent l'apoptose, d'autres diminuent le développement de blastocytes et le nombre de cellules par embryon. Les résultats indiquent des effets sur le développement précoce à des concentrations inférieures à celles supposées avoir des effets sur la santé.

Thiruchelvam et coll. (2000) montrent que l'activité motrice des souris est altérée uniquement en présence du mélange paraquat et manèbe (5 à 10 et 15 à 30 mg/kg respectivement) et n'est pas modifiée en présence des pesticides isolés.

Pas d'effets additifs : le mélange a un effet identique à celui observé pour l'un ou plusieurs produits

L'impact d'un mélange de 27 contaminants (comprenant des PCB, des organochlorés et du mercure) retrouvés dans le sang des populations arctiques canadiennes a été étudié chez des rats (Pelletier et coll., 2009). Les animaux ont été exposés à ce mélange depuis la gestation jusqu'au sevrage. Seule la plus

forte dose du mélange induit une toxicité qui est due au mercure en ce qui concerne le taux de mortalité, et aux PCB en ce qui concerne les paramètres de la thyroïde. Ce même « cocktail » administré chez le rat pendant la phase de gestation et de lactation, à des concentrations proches de l'exposition réelle des populations arctiques, entraîne des perturbations neuro-immunes et hormonales. Elles seraient dues uniquement à la présence de PCB en ce qui concerne l'augmentation de IL-6 dans l'hypothalamus ou à la présence de PCB et des autres contaminants du mélange en ce qui concerne l'augmentation de IL-1b et de IL-10 (Hayley et coll., 2011).

Un mélange de 15 pesticides, fréquemment retrouvé dans l'alimentation en Italie, administré à la dose totale de 1 mg/kg/jour pendant 10 jours, chez le rat provoque des dommages de l'ADN (oxydation des bases) dans le foie. Cet effet est dû à la seule présence de deux fongicides, la diphénylamine et le chlorothalonil (Lodovici et coll., 1997). L'administration de trois organophosphorés (chlorpyrifos, méthyl parathion et malathion) en mélange n'entraîne pas de potentialisation de leur effet pro-oxydant dans différents tissus chez le rat (Ojha et coll., 2011).

Certaines études se sont également intéressées aux conséquences de ces expositions sur les fonctions du système nerveux. Cicchetti et coll. (2005) n'observent pas d'effets synergiques de deux pesticides ayant les mêmes cibles physiologiques (paraquat, 10 mg/kg et manèbe, 30 mg/kg) sur la dégénérescence neuronale. C'est l'effet du paraquat qui prédomine.

Pas d'effet du mélange

Wade et coll. (2002) ont testé les effets d'un mélange complexe de contaminants environnementaux persistants qui mime la contamination réelle des canadiens du Nord (TCDD, PCB, DDT, dieldrine, endosulfan...) pendant 70 jours chez le rat. Seules les doses les plus fortes (NOAEL X1000) perturbent le métabolisme général et celui du foie et du rein. Peu d'effets sont observés sur le système immunitaire, les taux hormonaux et différents paramètres de la reproduction. Padhi et coll. (2008) montrent que la plupart des gènes activés dans le cerveau des rats par les composés individuels de ce mélange retournent à un niveau « contrôle » lorsque les animaux sont exposés au mélange. Ceci montre que la co-exposition aux contaminants peut masquer les effets de chacun des composants du mélange sur l'expression des gènes du cerveau. Après exposition aux composants isolés, les profils d'expression des gènes sont différents chez le mâle et la femelle montrant ainsi que le genre est un facteur biologique influençant la réponse génomique aux contaminants environnementaux.

Un mélange de 12 pesticides (alachlore, atrazine, carbofuran, chlorpyrifos, diazinon, dicofol, endosulfan, iprodione, mancozèbe, manèbe, procymidone et roténone), chacun à la dose journalière admissible, a été testé chez des rats

qui présentent une hépatocarcinogénèse induite expérimentalement (Perez Carreon et coll., 2009). Aucun effet de potentialisation ou de co-carcinogénicité n'a été rapporté.

Effet des mélanges différent de l'effet des pesticides seuls

Le paraquat (herbicide) et le triadimefon (fongicide) n'ont pas le même impact sur la motricité selon qu'ils sont administrés seuls ou en mélange (Reeves et coll., 2003) bien qu'ayant tous les deux une action sur la fonction dopaminergique. L'association paraquat triadimefon, comme le paraquat seul, inhibe un type d'activité motrice (déplacement horizontal) alors que le triadimefon seul augmente cette activité.

Le mélange à faible concentration de chlorpyrifos et de diazinon, deux insecticides organophosphorés, inhibiteurs de l'acétylcholinestérase induit chez *Caenorhabditis elegans* l'expression de gènes différents (89 gènes) de ceux induits lorsqu'ils sont administrés seuls. L'effet du mélange à faible dose n'est pas la somme des effets des pesticides seuls. Cependant, même si les gènes sont différents, les voies de signalisation activées restent les mêmes ce qui conduit à des réponses similaires (Vinuela et coll., 2010).

Viau et coll. (2002) et Canistro et coll. (2008) soulignent la complexité de l'effet des mélanges. L'influence des composés d'un mélange peut s'exercer pendant l'absorption, la distribution, la biotransformation et l'excrétion des xénobiotiques. La prédiction d'une interaction potentielle des composés nécessite la connaissance des processus de biotransformation de chaque composant du mélange ainsi que des systèmes enzymatiques impliqués. Canistro et coll. (2008) montrent bien que les mélanges testés perturbent les activités des enzymes du métabolisme de xénobiotiques d'une façon très complexe et non prédictive, ce qui renforce la conviction de la difficulté de prédire les risques toxicologiques à partir de l'effet des molécules évaluées individuellement.

Effets des mélanges : approche mécanistique

Dans les études *in vitro*, les résultats relatifs à l'impact des mélanges de pesticides semblent moins complexes. La plupart des études montrent un effet des mélanges supérieur à celui des pesticides seuls (Pâyne et coll., 2001 ; Olgun et Misra, 2006 ; Hewitt et coll. 2007 ; Valeron et coll., 2009 ; Sharma et coll., 2010 ; El-Demerdash et coll., 2011 ; Graillot et coll., 2012 ; Crepet et coll., 2012) avec un effet important de la dose testée (Das et coll., 2007 ; Ohlsson et coll., 2010 ; Aubé et coll., 2011). Des études récentes cherchent à caractériser les mécanismes moléculaires mis en jeu, et mettent en évidence des perturbations dans les processus de protection des cellules

(*upregulation* des enzymes de détoxification, CYP3A4 et CYP3A11, et processus anti-apoptotiques) (Rouimi et coll., 2012).

La complexité de l'effet des mélanges est liée aux différents niveaux d'interaction cellulaire et moléculaire des pesticides (voir figure 22.1). Les pesticides peuvent affecter l'expression ou l'activité des transporteurs ABC, première barrière de l'organisme vis-à-vis des xénobiotiques. Ils peuvent moduler l'activité ou l'expression de certains cytochromes P450 impliqués dans la détoxification de nombreux composés exogènes. L'impact d'un pesticide sur ces deux systèmes cellulaires peut modifier leur propre biodisponibilité ou celle d'autres pesticides ou médicaments. De plus, la plupart des pesticides possèdent des propriétés pro-oxydantes et certains composés agissent sur l'activité de voies de signalisation impliquées dans la régulation de la croissance et de la survie cellulaire. On comprend alors aisément qu'un mélange de pesticides en interagissant à différents niveaux cellulaires et moléculaires puisse conduire à des effets non prédictibles par rapport à l'effet des pesticides seuls.

En conclusion, la population générale comme la population professionnelle est exposée en permanence à des « cocktails » de xénobiotiques, comme des mélanges de pesticides tant à partir des denrées alimentaires qu'à travers l'environnement général et professionnel où des molécules, même interdites, sont encore présentes. Les effets d'une exposition à un mélange de pesticides restent extrêmement difficiles à mettre en évidence d'autant que viennent s'ajouter les effets d'autres produits chimiques de nature extrêmement variée. Prédire les risques d'une exposition à un mélange de pesticides est une démarche encore très complexe puisque ces composés vont interagir en termes de toxicocinétique et toxicodynamique conduisant à des effets plus ou moins importants par rapport à ceux observés en présence de molécules seules ou à la simple somme des effets de chaque composé (Hernandez et coll. 2012). Malgré de nombreuses études relatives à l'impact des mélanges de pesticides, il existe encore trop peu de données concernant les interactions possibles entre les composants d'un mélange. La multiplicité des interactions lors d'une exposition à un mélange de substances rend compte de la difficulté d'une évaluation toxicologique réglementaire des mélanges. Ces interactions peuvent en outre être influencées par de nombreux autres paramètres comme l'imprégnation à d'autres molécules (tabac, alcool, médicaments...) ou l'état physiopathologique de l'individu (diabète, insuffisance rénale...). Pour évaluer l'effet d'un mélange de pesticides, il est difficile d'appliquer les méthodes traditionnelles tant *in vivo* qu'*in vitro* même si les résultats des études *in vitro* semblent plus convergents sur un effet supérieur des mélanges par rapport à celui de pesticides isolés. Les effets mécanistiques décrits à l'aide des systèmes rapporteurs seront amenés à évoluer compte tenu des nouveaux mécanismes d'action impliquant les récepteurs nucléaires ou de xénobiotiques récemment mis en évidence (signalisation non génomique, isoformes membranaires...).

La complexité des interactions des pesticides au sein d'un mélange avec différentes cibles aux niveaux cellulaire et moléculaire (transporteurs de xénobiotiques, cytochromes P450, différentes voies de signalisation...) justifie d'approfondir les recherches en utilisant des modèles expérimentaux mimant l'exposition des professionnels et en parallèle de rechercher des modèles théoriques pouvant rendre compte d'un mécanisme d'action similaire ou au contraire distinct. Comme le proposent Soto et Sonnenschein dans une revue récente (Soto et Sonnenschein, 2010), il sera important d'associer plusieurs approches comme la modélisation mathématique, les simulations et les approches expérimentales pour améliorer les connaissances dans ce domaine.

BIBLIOGRAPHIE

AUBE M, LAROCHELLE C, AYOTTE P. Differential effects of a complex organochlorine mixture on the proliferation of breast cancer cell lines. *Environ Res* 2011, **111**(3) : 337-347

BLYSTONE CR, LAMBRIGHT CS, CARDON MC, FURR J, RIDER CV, et coll. Cumulative and antagonistic effects of a mixture of the antiandrogens vinclozolin and iprodione in the pubertal male rat. *Toxicol Sci* 2009, **111** : 179-188

CANISTRO D, POZZETTI L, SAPONE A, BROCCOLI M, AFFATATO AA, et coll. Perturbation of murine liver cyp-superfamily of isoforms by different combinations of pesticide mixtures. *Food Chem Toxicol* 2008, **46** : 34-42

CASTILLO CG, MONTANTE M, DUFOUR L, MARTINEZ ML, JIMENEZ-CAPDEVILLE ME. Behavioral effects of exposure to endosulfan and methyl parathion in adult rats. *Neurotoxicol Teratol* 2002, **24** : 797-804

CHRISTIANSEN S, SCHOLZE M, DALGAARD M, VINGGAARD AM, AXELSTAD M, et coll. Synergistic disruption of external male sex organ development by a mixture of four antiandrogens. *Environ Health Perspect* 2009, **117** : 1839-1846

CICCHETTI F, LAPOINTE N, ROBERGE-TREMBLAY A, SAINT-PIERRE M, JIMENEZ L, et coll. Systemic exposure to paraquat and maneb models early Parkinson's disease in young adult rats. *Neurobiol Dis* 2005, **20** : 360-371

CORY-SLECHTA DA. Studying toxicants as single chemicals: does this strategy adequately identify neurotoxic risk? *Neurotoxicology* 2005, **26** : 491-510

CREPET A, HERAUD F, BECHAUX C, GOUZE ME, SUZANNE, et coll. The PERICLES research program: an integrated approach to characterize the combined effects of mixtures of pesticide residues to which the French population is exposed. *Toxicology* 2012, (sous presse)

DAS PP, SHAIK AP, JAMIL K. Genotoxicity induced by pesticide mixtures: in-vitro studies on human peripheral blood lymphocytes. *Toxicol Ind Health* 2007, **23** : 449-458

DE LA ROSA P, BARNETT J, SCHAFER R. Loss of pre-B and IgM(+) B cells in the bone marrow after exposure to a mixture of herbicides. *J Toxicol Environ Health A* 2003, **66** : 2299-2313

- EL-DEMERDASH FM. Oxidative stress and hepatotoxicity induced by synthetic pyrethroids-organophosphate insecticides mixture in rat. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2011, **29** : 145-158
- EUROPEAN COMMISSION. Opinion on the Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures. 2011, 45p
- GRAILLOT V, TAKAKURA N, HEGARAT LL, FESSARD V, AUDEBERT M, CRAVEDI JP. Genotoxicity of pesticide mixtures present in the diet of the French population. *Environ Mol Mutagen* 2012, **53** : 173-184
- GREENLEE AR, ELLIS TM, BERG RL. Low-dose agrochemicals and lawn-care pesticides induce developmental toxicity in murine preimplantation embryos. *Environ Health Perspect* 2004, **112** : 703-709
- HAYES TB, CASE P, CHUI S, CHUNG D, HAEFFELE C, et coll. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? *Environ Health Perspect* 2006, **114** (suppl 1) : 40-50
- HAYLEY S, MANGANO E, CROWE G, LI N, BOWERS WJ. An in vivo animal study assessing long-term changes in hypothalamic cytokines following perinatal exposure to a chemical mixture based on Arctic maternal body burden. *Environ Health* 2011, **10** : 65
- HERNÁNDEZ AF, PARRÓNT, TSATSAKIS AM, REQUENA M, ALARCÓN R, LÓPEZ-GUARNIDO O. Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: Their relevance to human health. *Toxicology* 2012, Jun 21 [Epub ahead of print]
- HEWITT R, FORERO A, LUNCSFORD PJ, MARTIN FL. Enhanced micronucleus formation and modulation of BCL-2:BAX in MCF-7 cells after exposure to binary mixtures. *Environ Health Perspect* 2007, **115** (suppl 1) : 129-136
- KEY P, CHUNG K, SIEWICKI T, FULTON M. Toxicity of three pesticides individually and in mixture to larval grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). *Ecotoxicol Environ Saf* 2007, **68** : 272-277
- KORTENKAMP A. Low dose mixture effects of endocrine disruptors: implications for risk assessment and epidemiology. *Int J Androl* 2008, **31** : 233-240
- LAETZ CA, BALDWIN DH, COLLIER TK, HEBERT V, STARK JD, et coll. The synergistic toxicity of pesticide mixtures: implications for risk assessment and the conservation of endangered Pacific salmon. *Environ Health Perspect* 2009, **117** : 348-353
- LODOVICI M, CASALINI C, BRIANI C, DOLARA P. Oxidative liver DNA damage in rats treated with pesticide mixtures. *Toxicology* 1997, **117** : 55-60
- OHLSSON A, CEDERGREEN N, OSKARSSON A, ULLERAS E. Mixture effects of imidazole fungicides on cortisol and aldosterone secretion in human adrenocortical H295R cells. *Toxicology* 2010, **275** : 21-28
- OJHA A, YADUVANSHI SK, PANT SC, LOMASH V, SRIVASTAVA N. Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by three commonly used organophosphate pesticides individually and in mixture, in rat tissues. *Environ Toxicol* 2011 Jul 22. Epub ahead of print

OLGUN S, MISRA HP. Pesticides induced oxidative stress in thymocytes. *Mol Cell Biochem* 2006, **290** : 137-144

PADHI BK, PELLETIER G, WILLIAMS A, BERNDT-WEIS L, YAUK C, et coll. Gene expression profiling in rat cerebellum following in utero and lactational exposure to mixtures of methylmercury, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides. *Toxicol Lett* 2008, **176** : 93-103

PAYNE J, SCHOLZE M, KORTENKAMP A. Mixtures of four organochlorines enhance human breast cancer cell proliferation. *Environ Health Perspect* 2001, **109** : 391-397

PELLETIER G, MASSON S, WADE MJ, NAKAI J, ALWIS R, et coll. Contribution of methylmercury, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides to the toxicity of a contaminant mixture based on Canadian Arctic population blood profiles. *Toxicol Lett* 2009, **184** : 176-185

PEREZ-CARREON JI, DARGENT C, MERHI M, FATTEL-FAZENDA S, ARCE-POPOCA E, et coll. Tumor promoting and co-carcinogenic effects in medium-term rat hepatocarcinogenesis are not modified by co-administration of 12 pesticides in mixture at acceptable daily intake. *Food Chem Toxicol* 2009, **47** : 540-546

PEROBELLI JE, MARTINEZ MF, DA SILVA FRANCHI CA, FERNANDEZ CD, DE CAMARGO JL, et coll. Decreased sperm motility in rats orally exposed to single or mixed pesticides. *J Toxicol Environ Health A* 2010, **73** : 991-1002

PRUETT SB, FAN R, OPPENHEIMER S. Greater than additive suppression of TLR3-induced IL-6 responses by administration of dieldrin and atrazine. *J Immunotoxicol* 2006, **3** : 253-262

REEVES R, THIRUCHELVAM M, BAGGS RB, CORY-SLECHTA DA. Interactions of paraquat and triadimefon: behavioral and neurochemical effects. *Neurotoxicology* 2003, **24** : 839-850

ROUIMI P, ZUCCHINI-PASCAL N, DUPONT G, RAZPOTNIK A, FOUCHE E, et coll. Impacts of low doses of pesticide mixtures on liver cells defense systems. *Toxicology in Vitro* 2012, **26** : 718-726

SHARMA H, ZHANG P, BARBER DS, LIU B. Organochlorine pesticides dieldrin and lindane induce cooperative toxicity in dopaminergic neurons: role of oxidative stress. *Neurotoxicology* 2010, **31** : 215-222

SOTO AM, SONNENSCHN C. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. *Nat Rev Endocrinol* 2010, **6** : 363-370

THIRUCHELVAM M, RICHFIELD EK, BAGGS RB, TANK AW, CORY-SLECHTA DA. The nigrostriatal dopaminergic system as a preferential target of repeated exposures to combined paraquat and maneb: implications for Parkinson's disease. *J Neurosci* 2000, **20** : 9207-9214

VALERON PF, PESTANO JJ, LUZARDO OP, ZUMBADO ML, ALMEIDA M, et coll. Differential effects exerted on human mammary epithelial cells by environmentally relevant organochlorine pesticides either individually or in combination. *Chem Biol Interact* 2009, **180** : 485-491

VIAU C. Biological monitoring of exposure to mixtures. *Toxicol Lett* 2002, **134** : 9-16

VINUELA A, SNOEK LB, RIKSEN JA, KAMMENGA JE. Genome-wide gene expression analysis in response to organophosphorus pesticide chlorpyrifos and diazinon in *C. elegans*. *PLoS One* 2010, **5** : e12145

WADE MG, FOSTER WG, YOUNGLAI EV, MCMAHON A, LEINGARTNER K et coll. Effects of subchronic exposure to a complex mixture of persistent contaminants in male rats: systemic, immune, and reproductive effects. *Toxicol Sci* 2002, **67** : 131-143

XU LC, LIU L, REN XM, ZHANG MR, CONG N, et coll. Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of some pesticides in vitro. *Toxicology* 2008, **243** : 59-65