

**Détermination de la concentration de manganèse dans l'eau
potable associée à des déficits cognitifs
chez l'enfant**

par

Savroop Singh Kullar

Département de santé environnementale et santé au travail

École de santé publique

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales

en vue de l'obtention du grade

M.Sc. en santé environnementale et santé au travail

juin, 2018

RÉSUMÉ

Le manganèse (Mn) est un nutriment essentiel, mais peut induire des effets neurotoxiques lorsque l'exposition est trop élevée. En particulier, certaines études récentes ont rapporté que l'exposition au Mn dans l'eau potable était associée à une diminution des habiletés cognitives chez les enfants. Par contre, la concentration à partir de laquelle ces effets apparaissent n'a pas été estimée dans les études existantes. Par conséquent, l'objectif de mon mémoire de maîtrise était d'estimer la concentration de Mn dans l'eau potable associée à différents niveaux prédéfinis de déficit cognitif chez des enfants d'âge scolaire. Pour ce faire, les données de deux études transversales du Canada ont été poolées, résultant en un échantillon de 630 enfants âgés de 5 à 14 ans. Le quotient intellectuel (QI) de chaque enfant a été évalué et la concentration de Mn a été mesurée dans l'eau de la résidence. Au moyen du logiciel *Bayesian Benchmark Dose Analysis*, nous avons conduit une analyse concentration repère (*benchmark concentration*) pour estimer les concentrations de Mn dans l'eau associées à une diminution de 1%, 2% et de 5% de QI, ainsi que les limites inférieures des intervalles crédibles à 95% (LIIC95%). Nos résultats indiquent que la concentration de Mn dans l'eau associée à une diminution de 1% de QI était de 121 µg/L (LIIC95%, 70 µg/L), tandis que celles à une diminution de 2% et de 5% de QI étaient de 241 µg/L (LIIC95%, 141 µg/L) et 611 µg/L (LIIC95%, 367 µg/L), respectivement. Puisque les résultats suggèrent que l'association entre le Mn dans l'eau et le QI diffère entre les sexes, des analyses stratifiées ont aussi été menées. La concentration de Mn dans l'eau associée à une diminution de 1% de QI était de 169 µg/L (LIIC95%, 68 µg/L) chez les garçons et de 73 µg/L (LIIC95%, 8 µg/L) chez les filles. Il n'existe pas de recommandation actuellement au Canada sur la concentration de Mn qui devrait être permise dans l'eau potable, et ces résultats pourraient guider les décideurs dans l'élaboration d'une telle recommandation pour protéger les enfants des effets neurotoxiques de ce métal.

Mots clés : Eau potable, manganèse, enfants, neurotoxicité, QI, concentration repère

ABSTRACT

Manganese (Mn) is an essential nutrient but can induce neurotoxic effects elevated exposure levels. Recent studies have reported that exposure to Mn in drinking water could be associated with a decrease in cognitive abilities in children. However, the concentration at which these effects appear has not been estimated in previous studies. Therefore, the objective of my master's thesis was to estimate the concentration of Mn in drinking water associated with different predefined levels of cognitive deficits in children. To achieve this, data from two cross-sectional studies from Canada were pooled resulting in a sample of 630 children from ages 5-14 years. The intelligence quotient (IQ) of each child was assessed and the concentration of Mn was measured from the tap water of their residence. We used the software *Bayesian Benchmark Dose Analysis* to estimate the benchmark concentrations of water Mn associated with a 1%, 2% and 5% decrease in IQ, as well as the lower limits of the 95% credible interval (LL95%CI). Our results show that the concentration of Mn in water associated with a 1% decrease in IQ was 121 µg/L (LL95%CI, 70 µg/L), while those for a decrease of 2% and 5% points were 241 µg /L (LL95%CI, 141 µg/L) and 611 µg/L (LL95%CI, 367 µg/L) respectively. Since the results suggest that the association between Mn in water and IQ is different between the sexes, we also conducted sex-stratified analyses. The concentration of Mn in water associated with a 1% decrease in IQ was 169 µg/L (LL95%CI, 68 µg/L) in boys and 73 µg/L (LL95%CI, 8 µg/L) in girls. As there is currently no established health-based guideline for Mn in drinking water in Canada, these results can guide decision-makers in developing a guideline aimed at protecting children from neurotoxicity from this metal.

Keywords: Drinking water, manganese, children, neurotoxicity, IQ, benchmark concentration

Liste des tableaux

		Page
Table I	Household water manganese concentrations ($\mu\text{g/L}$) and Performance IQ in relation with family and child characteristics (n=630)	36
Table II	Water manganese BMCs and BMCLs ($\mu\text{g/L}$) for the total and sex-stratified sample based on benchmark response rates of a 1, 2 and 5% reduction in Performance IQ	38
Table III	Percentage of wells above selected manganese concentrations in 808 public wells sampled by the U.S. National Water-Quality Assessment (NAWQA) Program (1993-2007)	43
Table S-I	Median concentrations of other metals in tap water ($\mu\text{g/L}$); participants stratified by sex	iv
Table S-II	Water samples of other metals above Health Canada's Guidelines; participants stratified by sex	v
Tableau S-III	Corrélations entre le manganèse et autres métaux dans l'eau ($\mu\text{g/L}$)	vi

Liste des figures

		Page
Figure 1	Étapes pour arriver à l'échantillon final pour l'analyse poolée	16
Figure 2a	Linear function of the concentration-response plot for tap water manganese concentration ($\mu\text{g/L}$) and adjusted Performance IQ scores (n=630)	39
Figure 2b	Linear function of the concentration-response plot for tap water manganese concentration ($\mu\text{g/L}$) and adjusted Performance IQ scores excluding two outliers $>1500 \mu\text{g/L}$ (n=628)	40
Figure S-1	Distribution des fréquences de la concentration de manganèse dans l'eau du robinet chez les participants (n=630)	vii
Figure S-2	Comparaison des LIIC95% estimées par la présente étude avec autres recommandations en matière de santé pour le manganèse dans l'eau potable	viii

Liste des abréviations

AESA	Autorité européenne de la sécurité des aliments
BBMD	<i>Bayesian Benchmark dose</i>
HOME	<i>Home Observation for Measurement of the Environment</i>
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
INSPQ	Institut national de santé publique du Québec
LIIC95%	Limite inférieure de l'intervalle crédible à 95 %
LL95%CI	<i>Lower limit of the 95% credible interval</i>
LOAEL	<i>Lowest Observed Adverse Effect Level</i>
Mn	Manganèse
NAWQA	<i>National Water-Quality Assessment</i>
NOAEL	<i>No-observed-adverse-effect level</i>
OMS	Organisation mondiale de la santé
PPP	Valeur de p prédictive postérieure
QI	Quotient intellectuel
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency
WASI	Échelle d'intelligence abrégée de Wechsler ^{MD}
WISC-IV	Échelle d'intelligence de Wechsler pour enfants ^{MD} , 4 ^e édition

*Aux Francophones vivant en situation minoritaire au Canada où
l'accès aux soins de santé et à la recherche scientifique en français
est un enjeu aussi important que l'accès
à l'eau potable salubre*

REMERCIEMENTS

Je voudrais d'abord remercier Maryse Bouchard, ma directrice de recherche pour sa patience exceptionnelle et pour son encadrement continu. Dès le début, elle a mis mes capacités de réflexion dans ma troisième langue à l'épreuve et m'a montré l'importance de la pensée logique. À chaque fois, j'ai quitté son bureau avec une vision unique en recherche et avec une soif pour la connaissance. Merci également pour m'ouvrir les yeux au monde de l'épidémiologie environnementale en me donnant l'opportunité d'assister à diverses conférences et de présenter notre projet de recherche.

Par la suite, j'aimerais remercier le Département de santé environnementale et santé au travail pour m'avoir supporté avec la bourse d'études. Ainsi, je voudrais remercier le professeur Jérôme Lavoué pour ses commentaires constructifs dans le cadre du Séminaire de recherche. Je remercie également Patrick Ntantu pour m'aider à corriger mon mémoire. Un merci également à Katia Sokoloff pour les discussions enrichissantes.

ਕਿਸੇ ਦੀ ਸਲਾਮ ਨਾਲ ਰਸਤਾ ਜ਼ਰੂਰ ਮਿਲ ਜਾਂਦਾ ਹੈ ਪਰ ਮੰਜ਼ਿਲ ਅਪਨੀ ਮਿਹਨਤ ਨਾਲ ਮਿਲਦੀ ਹੈ |

ਮੈਂ ਆਪਣੇ ਪਰਿਵਾਰ ਦਾ ਧੰਨਵਾਦ ਕਰਨਾ ਚੰਦਾਂ ਹਾਂ, ਜੀਣਾ ਨੇ ਮੈਨੂੰ ਪੜ੍ਹਾਈ ਦੀ ਕੀਮਤ ਸਿਖਾਈ | ਮੈਂ ਆਪਣੀ ਮਾਮੀ ਮਾਂ ਦਾ ਬਹੁਤ ਬਹੁਤ ਧੰਨਵਾਦ ਕਰਦਾ ਹਾਂ ਜਿਹਨਾਂ ਮੈਨੂੰ ਕਹਾਣੀਆਂ ਸੁਣਾਈਆਂ |

A thank you to Roque Javier Romero for making sure I was still existing and for editing my thesis along with the help of brother Juan-Jose.

Avant – propos

Les premiers cas cliniques de neurotoxicité du manganèse remontent au XIXe siècle. Pourtant ce n'est qu'au cours des années 90 qu'une accumulation de preuves scientifiques de partout dans le monde a suggéré que des effets néfastes puissent aussi survenir en lien avec des expositions environnementales, notamment chez les enfants. La présente étude a été motivée par les résultats de ces études antérieures et l'intérêt pressant des agences gouvernementales pour établir une concentration sécuritaire pour le manganèse dans l'eau potable.

Ce mémoire est composé de quatre chapitres. Le premier chapitre présente un survol de l'état des connaissances sur la question de recherche ainsi que l'objectif de notre étude. Le deuxième chapitre présente les aspects méthodologiques de l'étude, comme la description des échantillons populationnels, la collecte de données, et les analyses statistiques. Le troisième chapitre est l'article qui est en préparation pour publication dans un journal scientifique. Le quatrième chapitre est une discussion générale qui place le projet dans un contexte plus global et analyse des forces et des limites de l'étude.

Pour l'article, Savroop Kullar, le premier auteur, a contribué à l'élaboration de la base de données, aux analyses statistiques et à la rédaction de l'article. Maryse F. Bouchard, la directrice de recherche de Savroop Kullar, a encadré toutes les activités liées au projet de recherche. Les autres coauteurs ont également contribué à l'élaboration de la rédaction de l'article selon leur domaine d'expertise : Kan Shao (analyses concentration repère avec BBMD), Céline Surette (protocole pour la collecte de données), Delphine Faucher (méthodologie sur les questionnaires de recherche), Donna Mergler (expertise en neurotoxicité du manganèse), Pierre Cormier (méthodologie des tests cognitifs), David C. Bellinger (expertise en neurotoxicité développementale chez l'enfant), Benoit Barbeau (traitement de manganèse dans l'eau), et Sébastien Sauvé (analyses de laboratoire pour mesure des concentrations).

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	ii
ABSTRACT	iii
Liste des tableaux	iv
Liste des figures.....	v
Liste des abréviations	vi
Dédicace	vii
Remerciements.....	viii
Avant-propos.....	ix
CHAPITRE I. INTRODUCTION	1
1.1 Le manganèse dans l'environnement	1
1.1.1 Dans l'air	1
1.1.2 Dans les sols	2
1.1.3 Dans l'eau	2
1.2 Toxicocinétique de manganèse	4
1.2.1 Exposition par inhalation.	4
1.2.2 Exposition par ingestion	5
1.3 Neurotoxicité du manganèse	5
1.3.1 Populations vulnérables aux effets toxiques de Mn.....	6
1.3.1.1 Les nourrissons et les enfants	6
1.3.1.2 Les filles	7
1.3.1.3 Les personnes âgées	8
1.4 Études épidémiologiques chez les enfants	8
1.4.1 Cas cliniques d'intoxication au Mn de l'eau potable	9
1.4.2 Étude au Québec	10
1.4.3 Étude au Nouveau-Brunswick	10
1.5 Règlementation de l'eau potable au Canada	11
1.5.1 Règlementation du Mn d'eau potable au Canada.....	11
1.5.1.1Règlementations du Mn d'eau potable dans le monde	13
1.6 L'approche concentration repère	13
1.7 Problématique	14
1.8 Objectif de recherche	15

CHAPITRE II. MÉTHODOLOGIE	16
2.1 Design de l'étude	16
2.1.1 Critères d'inclusion et d'exclusion	16
2.1.2 Considérations éthiques	17
2.2 Collecte des données	18
2.2.1 Mesure de l'exposition	18
2.2.2 Mesure du quotient intellectuel	18
2.2.2.1 Échelle d'intelligence abrégée de Wechsler	19
2.2.2.2 Échelle d'intelligence de Wechsler pour les enfants, 4e édition	20
2.2.2.3 Harmonisation des scores	20
2.3 Analyses statistiques	21
2.3.1 Regroupement et nettoyage des données.....	21
2.3.2 Ajustement du QI pour les facteurs de confusion	22
2.3.3. Analyse concentration repère avec BBMD	23
 CHAPITRE III. A Pooled Benchmark Dose Analysis for Drinking Water Manganese Concentration and IQ Deficits in Children	 25
Abstract.....	26
List of Abbreviations	27
3.1 Introduction.....	28
3.2 Methodology.....	30
3.2.1 Study Populations	30
3.2.2 Measurement of Manganese in Tap Water	31
3.2.3. IQ Assessment	31
3.2.4 Adjustment of IQ scores for Potential Confounders	32
3.2.5 Determining the Critical Effect Level with BBMD.....	33
3.3 Results.....	34
3.4 Discussion and Conclusions.....	41
3.5 References	45
 CHAPITRE IV. DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSIONS	 50
4.1 Rappel des résultats principaux.....	50
4.2 Comparaison avec méthode de Santé Canada	51
4.3 Forces de la présente étude	51
4.3.1 Considération des facteurs de confusion	52
4.3.2 Méthodologie approfondie des études originales	52
4.4 Limites de la présente étude	53

4.4.1. Données transversales	53
4.4.2 Faible taille d'effectif pour analyse stratifiée	54
4.5 Traitement du manganèse dans l'eau	55
4.6 Considérations futures pour les études sur le Mn	55
4.7 Conclusions	56
4.8 RÉFÉRENCES	58
Annexe A. Approbations éthiques des études originales.....	i
Annexe B. Analyses des autres métaux.....	iv
Annexe C. Analyses descriptives	vii

CHAPITRE I. INTRODUCTION

1.1 Le manganèse dans l'environnement

Le manganèse (Mn) est un élément naturel très répandu dans l'environnement et représente environ 0,1% de la croûte terrestre (Barceloux, 1999). Ce métal de transition dur de couleur gris-noir ne se trouve pas à l'état pur dans la nature, mais plutôt avec d'autres substances, notamment avec le fer et l'oxygène. Le Mn existe sous deux formes, le Mn inorganique et le Mn organique. Le premier est plus présent dans l'environnement et dans le milieu de travail, notamment sous forme de $MnCl_2$, $MnSO_4$, MnO_2 ou de $MnPO_4$ (Williams *et al.*, 2012). Le Mn est un additif important dans la production de différents types d'acier (Rayner-Canham, 2010) et figure de plus en plus comme une composante importante dans les batteries au lithium-ion sous forme de MnO_2 dans les véhicules électriques (Chow, 2012). Le Mn organique quant à lui est présent dans quelques formulations des pesticides et dans le méthylcyclopentadiényle tricarbonyle de Mn (MMT), un additif employé dans quelques formulations d'essence (Zayed, 2001). Le Mn peut exister sous 11 états d'oxydation (de -3 à +7) et se lie facilement à certains composés, mais les plus communs de ces composés sont retrouvés dans le Mn inorganique, $MnCl_2^{+2}$, MnO_2^{+4} et $KMnO_4^{+7}$ (Stokes *et al.*, 1988). Il est important à noter que la plupart des sels de Mn inorganique sont facilement solubles dans l'eau, à l'exception de $MnCO_3$ et $Mn_3(PO_4)_2$ qui se trouve principalement dans l'industrie (Howe *et al.*, 2004). Dans le milieu naturel, le Mn est, en général, plus concentré dans les sols (40 – 90 ppm) puis dans l'eau (0,004 ppm) et dans l'air $<0,001 \text{ mg/m}^3$ (Williams *et al.*, 2012).

1.1.1 Dans l'air

Dans l'atmosphère, les sources naturelles les plus importantes de Mn proviennent de l'érosion des roches terrestres, mais également des feux de forêt, de la végétation et de l'activité volcanique (Howe *et al.*, 2004). De plus, certaines sources anthropiques contribuent significativement aux niveaux de Mn dans l'air, dont les rejets des émissions industrielles tels que le ferroalliage et les fonderies de fer et d'acier ainsi que les combustibles fossiles. Les concentrations de Mn ont tendance à être plus basses dans les

régions peu peuplées, plus élevées dans les zones rurales et encore plus élevées dans les zones urbaines (OMS, 2000). Les données issues du Réseau national de surveillance de la pollution de l'air ont montré des concentrations de 9-15 ng/m³ dans des villes industrielles (Windsor et Hamilton en Ontario) et <5 ng/m³ dans les villes avec peu d'activité industrielle (Victoria, Saskatoon et St. John) (Finkelstein et Jarrett, 2007). Des concentrations élevées de Mn dans l'air peuvent aussi exister en absence de sources industrielles, par exemple dans la poussière de la maison chez les résidents qui vivent à proximité de routes à forte densité de trafic (Rasmussen *et al.*, 2001).

1.1.2 Dans les sols

Le Mn qui se retrouve dans les sols provient principalement des roches et des minéraux des sols, mais également de la lixiviation, et des déjections animales (Howe *et al.*, 2004). Le pH du sol joue un rôle important dans la solubilité de Mn dans les sols. Les sols acides qui ont un faible pH et que ceux dont la concentration de matière organique est élevée peuvent présenter des concentrations plus fortes de Mn (Pinsino *et al.*, 2012). Des concentrations élevées en Mn ont été rapportées en Chine dans certains sols proches de sources industrielles, où des concentrations de 565 à 1363 mg/kg ont été mesurées dans les sédiments (Li, Qian *et al.*, 2014), et également en Italie à proximité d'usines de production métallurgiques (Pavilonis *et al.*, 2015).

1.1.3 Dans l'eau

Le Mn dans l'eau existe plus souvent sous forme soluble de Mn(II), ou comme particules d'oxyde, d'hydroxyde et de carbonate de Mn (Santé Canada, 2016). Tout comme le Mn dans les sols et dans l'air, les niveaux de Mn dans l'eau peuvent varier en fonction de la présence de sources anthropogéniques ou naturelles. Par exemple, les concentrations de Mn peuvent être plus élevées dans les eaux à faible pH ou à faible niveau d'oxygène, ou bien dans les eaux contaminées en raison des émissions de sources industrielles.

Au Canada, les concentrations de Mn dans l'eau potable sont généralement inférieures à 100 µg/L. Cependant, il existe une grande variabilité régionale des

concentrations de Mn dans l'eau, avec les valeurs les plus élevées dans l'eau souterraine (l'eau de puits) comparativement aux eaux de surface (lacs, rivières réservoirs, etc.) (Santé Canada, 2016). De façon peu fréquente, des niveaux élevés de Mn peuvent être trouvés dans l'eau de surface en condition anoxique, par exemple lorsque les températures sont élevées et que le niveau de l'eau est anormalement bas. Notons également que lorsque l'eau de surface est utilisée pour utilisation humaine, des traitements sont presque toujours appliqués à l'eau afin de réduire la présence de contaminants, dont le Mn.

Les concentrations les plus élevées de Mn dans l'eau potable sont habituellement rencontrées dans des contextes où la source de l'eau est souterraine, soit l'eau de puits. Au Canada, 30% de la population dépend de l'eau souterraine, variant de 15-25% pour le sud-ouest du Québec à de 50-75% pour le nord-ouest du Nouveau-Brunswick (Statistique Canada, 2010). Les concentrations de Mn dans les eaux souterraines se situent généralement entre 1 et 20 µg/L, mais une très grande variabilité est observée et des concentrations supérieures à 2000 µg/L ont été mesurées dans certaines régions (Santé Canada, 2016). Des niveaux élevés dans l'eau souterraine sont liés à la lixiviation des minéraux contenant du Mn du sous-sol entourant l'aquifère, et qui est favorisée par un pH faible. Évidemment, la présence de formations géologiques riches en Mn dans le sous-sol est également associée à des concentrations élevées de Mn dans l'eau souterraine.

Contrairement à l'eau de surface, l'eau souterraine est souvent consommée sans traitement préalable. Les concentrations élevées de Mn ont été également mesurées dans l'eau de puits municipaux aux États-Unis dans le cadre du programme du *National Water-Quality Assessment*. Par exemple, parmi 808 puits publics échantillonnés entre 1993 et 1998, 81 (10%) avaient des concentrations de Mn supérieures à 100 µg/L et 24 (3%) avaient des concentrations de Mn supérieures à 400 µg/L (NAWQA, 2018). Ainsi, il y a un grand nombre de personnes exposées à ces niveaux de Mn relativement élevés dans l'eau potable, ce qui pourrait poser un enjeu de santé publique si des effets toxiques sont associés à cette exposition.

1.2 Toxicocinétique du Mn

L'absorption, distribution et métabolisme du Mn varient selon la source d'exposition et selon certaines caractéristiques biologiques de l'organisme. Chez les humains en général, les concentrations de Mn dans les organes varient de 0,1 à 1 µg/g. Les concentrations les plus élevées se retrouvent dans le foie, le pancréas et les reins (O'Neal et Zheng, 2015). La sécrétion biliaire constitue la principale voie d'excrétion du Mn (Aschner et Aschner, 2005). L'excrétion par voie urinaire s'avère très faible (Andersen *et al.*, 1999). Ensuite, il n'y a pas d'évidence que la concentration de Mn dans le lait maternel est associée aux concentrations dans l'eau (Aschner *et al.*, 2005; Ljung *et al.*, 2009). Les demi-vies estimées chez les humains ayant ingéré du MnCl₂ sont de 13 à 37 jours pour la rétention dans tout le corps (Sandstrom *et al.*, 1986). Par contre, une étude chez les rats exposés au MnCl₂ par voie intraveineuse a montré une demi-vie de Mn particulièrement longue, de 50-220 jours dans le cerveau (Takeda *et al.*, 1995). Yokel *et al.* (2004) a observé chez les rats que son absorption dans le cerveau se fait par la diffusion facilitée, ce qui permet l'accumulation de Mn avec le temps.

1.2.1 Exposition au Mn par inhalation

Lorsqu'inhalées, les particules très fines de Mn peuvent entrer dans les poumons et être absorbées par les alvéoles pour ensuite entrer dans la circulation sanguine (Aschner *et al.*, 2005). De plus, les particules peuvent aussi être absorbées par la muqueuse olfactive et remonter le long du nerf olfactif jusqu'au bulbe olfactif dans le cerveau (Aschner *et al.*, 2005). Cette dernière voie constitue un mécanisme direct d'entrée dans le cerveau (sans le premier passage hépatique qui permet l'excrétion biliaire) ce qui en fait une voie d'exposition particulièrement préoccupante, mais ceci a pour l'instant uniquement été démontré chez le rat. De plus, les formes solubles de Mn sont plus facilement absorbées par voie respiratoire. Un autre facteur pouvant moduler l'absorption du Mn par inhalation est le statut du fer puisqu'il était constaté que la dose absorbée par les poumons est inversement proportionnelle au statut du fer dans le corps (Aschner *et al.*, 2005).

1.2.2 Exposition au Mn par ingestion

L'ingestion par voie orale est la source d'exposition au Mn la plus importante dans la population générale (Johnson *et al.*, 1991). Suite à une ingestion par voie orale, l'absorption du Mn se fait principalement dans le tube digestif (Johnson *et al.*, 1991). Tout comme l'exposition par inhalation, le niveau d'absorption de Mn par ingestion est également influencé par le niveau de fer présent dans le corps. Par exemple, Mena *et al.* (1969) ont noté que, chez des sujets âgés entre 13 et 44 ans, l'absorption sanguine de Mn était de 8% chez les anémiques et de 3% chez les non anémiques. De plus, une étude chez les jeunes femmes a rapporté une relation inverse entre la ferritine (protéine qui stocke le fer) et l'absorption de Mn dans l'intestin (Finley, 1999). Suite à une exposition excessive, le Mn ingéré s'accumule surtout dans les noyaux gris centraux du cerveau, plus spécifiquement dans le globus pallidus et le substantia nigra chez les sujets humains (Rose *et al.*, 1999). Ces régions cérébrales sont responsables de la régulation des mouvements moteurs fins, des comportements et du contrôle de la posture (Barter *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2007).

1.3 Neurotoxicité du Mn

Chez l'humain, les premiers cas rapportés de toxicité en lien avec l'exposition au Mn remontent à 1837 lorsque le médecin anglais James Couper a remarqué des signes similaires à la maladie de Parkinson chez les travailleurs écossais suite à une exposition à du minerai de ferromanganèse par inhalation. Ce syndrome a été appelé manganisme (Blanc, 2018). Cependant, au cours du 20^e siècle, on a constaté que le syndrome de manganisme était différent de la maladie de Parkinson. Calne *et al.* (1994) ont noté que, chez les individus atteints de manganisme, les tremblements sont moins fréquents, mais la dystonie (contraction involontaire des muscles) est plus fréquente par rapport aux individus atteints de la maladie de Parkinson. Au niveau physiopathologique, les lésions issues du manganisme sont plus diffuses tandis que dans le cas de la maladie de parkinson, les lésions se trouvent spécifiquement dans le substantia nigra du cerveau (Barbeau, 1984). De nombreuses autres études de plusieurs pays chez les travailleurs du secteur des alliages ferreux et chez les soudeurs exposés au Mn par inhalation ont

observé des manifestations cliniques similaires au manganisme tel que de troubles de comportements et moteurs qui peuvent durer même plusieurs années après l'arrêt d'exposition (Bouchard *et al.*, 2007; Lucchini *et al.*, 1999; Yoon et Ahn, 2015). Plusieurs études chez les animaux de laboratoire ont démontré que le système nerveux central est la partie de l'organisme la plus vulnérable suite à une exposition chronique au Mn (Santé Canada, 2016). Les principaux effets de la toxicité du Mn se manifestent par des signes et symptômes psychologiques et neurologiques qui seraient expliqués par des changements au niveau des noyaux gris centraux (Pentschew *et al.*, 1963; Yamada *et al.*, 1986) et des transporteurs de la dopamine, lesquels jouent un rôle important dans le fonctionnement normal du système nerveux (Neal et Guilarte, 2013). Des études chez les animaux, notamment chez les rats, ont observé des déficits neurologiques suite à exposition au Mn (Roth *et al.*, 2013). Par exemple, une étude chez des rats Wistar (3 groupes de 16 rats qui ont reçu une dose d'environ 15 ou de 60 mg MnCl₂/kg de poids corporel par jour pendant 10 semaines a montré une diminution significative de la mémoire et de l'activité motrice pour les rats qui ont reçu la plus forte dose (Vezér *et al.*, 2005). Dans une autre étude chez les rats Sprague-Dawley, mais cette fois-ci chez les femelles qui ont reçu 100 Mn/kg Mn par voie orale pendant une période de 43 semaines, Fitsanakis *et al.* (2009) ont observé des troubles d'apprentissage spatial.

1.3.1 Populations vulnérables aux effets toxiques de Mn

Il y a plusieurs caractéristiques qui rendent certains individus plus susceptibles que d'autres à la toxicité de Mn tels l'âge, le genre, l'ethnicité, la génétique et certains problèmes médicaux (O'Neal *et al.*, 2015). Cependant, le facteur le plus important semble être l'âge, que ce soit chez l'animal ou chez l'humain (O'Neal *et al.*, 2015; Vorhees *et al.*, 2014).

1.3.1.1 Les nourrissons et les enfants

Les enfants et les nouveau-nés sont souvent plus vulnérables aux contaminants dans l'environnement en raison de leurs comportements, leur ingestion élevée par rapport à leur poids corporel, et le développement continu de leur cerveau et de leur

physiologie (Landrigan *et al.*, 2004). Une récente étude en Ohio aux États-Unis a été menée chez 404 enfants de 7 à 9 ans habitant proche d'une raffinerie de ferromanganèse et a examiné le Mn dans l'environnement et les performances cognitives. Cette étude a rapporté une association inverse significative entre le Mn et les performances cognitives pour les enfants ayant plus grandes concentrations de Mn dans le sang ($>11,2 \mu\text{g/L}$) et dans les cheveux ($>747 \mu\text{g/g}$) comparativement aux témoins (sang : $8,2 - 11,2 \mu\text{g/L}$; cheveux : $207 - 747 \mu\text{g/g}$) (Haynes *et al.*, 2015). Les nourrissons sont particulièrement sensibles à l'exposition de Mn en raison de leur faible capacité d'excrétion biliaire. Ils peuvent absorber jusqu'à 40% du Mn ingéré comparativement à 3% chez les adultes (Aschner *et al.*, 2007). Une source importante d'exposition chez les nourrissons provient des formules pour bébés, particulièrement ceux à base de soja, qui peuvent contenir jusqu'à $200-300 \mu\text{g/L}$ de Mn, ce qui est beaucoup plus élevée que le lait humain ($3-10 \mu\text{g/L}$) (Lönnerdal, 1994). Wilson *et al.* (1992) n'avait noté aucune différence significative entre la concentration de Mn plasmique chez les nourrissons nés avant terme, nourris au lait maternel et ceux nourris à la formule de soja (Wahlberg *et al.*, 2018).

1.3.1.2 Les filles

Parmi les études traitant l'association entre le Mn dans l'environnement et les effets neurotoxiques chez les enfants, il y en a de plus en plus qui suggèrent des effets différentiels entre les garçons et les filles (Bauer *et al.*, 2017; Bouchard *et al.*, 2018; Hernández-Bonilla *et al.*, 2016; Hernández-Bonilla *et al.*, 2011; Menezes-Filho *et al.*, 2014; Riojas-Rodríguez *et al.*, 2010; Torres-Agustín *et al.*, 2013). Par exemple, dans une étude transversale chez 79 enfants au Mexique habitant proche d'une industrie minière, une association a été observé entre la concentration de Mn dans les cheveux et un QI plus faible, et ce, plus marqué chez les filles comparativement aux garçons (Riojas-Rodríguez *et al.*, 2010). De plus, une concentration de Mn plus élevée dans les dents primaires a été associée des effets neurocomportementaux chez les filles habitant proche des industries de ferromanganèse, mais pas chez les garçons (Bauer *et al.*, 2017). La cause de ces différences intersexes est mal comprise, mais le niveau du fer dans le corps pourrait

jouer un rôle. En effet, les individus avec un statut du fer plus bas absorbent davantage le Mn, et les femmes ont un statut de fer inférieur aux hommes en moyenne.

1.3.1.3 Les personnes âgées

L'âge joue un rôle important dans l'apparition des déficits neurocomportementaux et cognitifs suite à une exposition au Mn de l'environnement (Bouchard *et al.*, 2005). Les personnes plus âgées, notamment celles ayant plus de 50 ans, semblent être également sensibles aux effets neurotoxiques de ce métal dans l'eau potable (Kondakis *et al.*, 1989) et dans le milieu de travail (Mergler *et al.*, 1999). D'ailleurs, comme le Mn est éliminé du sang par le foie (Aschner *et al.*, 2005), il a été suggéré que les personnes atteintes des maladies hépatiques chroniques sont susceptibles à une accumulation dans le sang (Butterworth, 1995). La prévalence des maladies du foie est en hausse au Canada, en particulier chez la population plus âgée (Sherman *et al.*, 2013). Une étude par Spahr *et al.* (1996) chez 57 patientes ayant 56 ans en moyenne a rapporté des concentrations sanguines de Mn significativement plus élevés chez les patientes atteintes de cirrhose (331 +/- 190 nmol/L) que chez le groupe contrôle (125 +/- 49 nmol/L). Une autre étude chez 3 patients de 49-65 ans avec une hépatopathie chronique et une cirrhose a rapporté des niveaux significativement plus élevés de Mn sanguin comparativement aux patients sans ces maladies. Ceux-ci présentaient également une variété de signes neurologiques comme les troubles à la marche et des déficits cognitifs (Hauser *et al.*, 1994).

1.4 Études épidémiologiques chez les enfants

Plusieurs études épidémiologiques depuis les 20 dernières années suggèrent que des effets neurotoxiques peuvent affecter les enfants suite à une exposition via l'eau potable (O'Neal *et al.*, 2015). Par exemple, des études en Chine chez les enfants de 11 à 13 ans ont démontré une diminution des habiletés de langage, des performances mathématiques et de la réussite académique chez les enfants qui ont ingéré des niveaux élevés de Mn dans l'eau potable pendant trois ans (>240 µg/L) (He *et al.*, 1994; Zhang, Liu et He, 1995). Dans une autre étude transversale par Wasserman *et al.* (2011) chez 142 enfants de 10 ans dans la région rurale d'Araihazar au Bangladesh, les enfants

exposés à la plus forte concentration de Mn d'eau des puits ($\geq 1,000 \mu\text{g/L}$), avaient des résultats plus faibles à des tests cognitifs comparativement au groupe moins exposés ($< 200 \mu\text{g/L}$). Une autre étude transversale de la même région, sur 201 enfants de 8-11 ans a rapporté une association entre les problèmes de comportements extériorisés et intériorisés dans la salle de classe (Khan *et al.*, 2011). Les problèmes de comportements extériorisés sont ceux qui sont facilement observables comme l'agression, tandis que les problèmes de comportements intériorisés sont moins aisément observables, comme la dépression (Achenbach *et al.*, 2016). Dans cette étude, les comportements extériorisés étaient plus fortement associés aux concentrations élevées de Mn dans l'eau comparativement aux comportements d'intériorisation. Il est à noter que des concentrations élevées d'arsenic se trouvaient également dans cette région, mais l'arsenic n'était pas associé avec ces problèmes de comportements.

1.4.1 Cas cliniques d'intoxication au Mn de l'eau potable

Des études de cas ont rapporté des situations d'enfants présentant des manifestations cliniques apparentées aux effets neurotoxiques rapportés dans les cas de personnes intoxiquées au Mn. Une fille âgée de 6 ans du Nouveau-Brunswick présentait des troubles de coordination, des troubles de coordination motrice (Sahni *et al.*, 2007). Il a été suggéré que la concentration élevée de Mn dans l'eau du puits familial ($1700-2400 \mu\text{g/L}$) aurait pu être responsable des niveaux élevés de Mn dans son sang ($39,7 \mu\text{g/L}$; normal, $4,3-15,9 \mu\text{g/L}$) et à ses symptômes. Un autre cas a été rapporté au Canada chez une fille de 5 ans chez qui un examen d'imagerie cérébrale a révélé la présence d'une accumulation de Mn dans les noyaux gris centraux, un signe souvent retrouvé chez les patients atteints de manganisme (Brna *et al.*, 2011). Les niveaux élevés de Mn qui se trouvaient dans l'eau de sa résidence ont été mis en cause. Cependant, les autres membres de sa famille étaient asymptomatiques et il a été suggéré que l'anémie de l'enfant la rendait plus vulnérable à la toxicité du Mn. Dans ces deux cas, il n'a pas été possible de déterminer avec certitude si les symptômes étaient dus au Mn. Un autre cas rapporte un garçon de 10 ans du Massachusetts qui présentait un rendement scolaire sous la moyenne et des scores faibles de mémoire et d'attention, mais aucun trouble

neurologique ou de coordination comme dans les deux cas ci-haut (Woolf *et al.*, 2002). Une analyse de l'eau de la résidence a montré une concentration élevée de Mn dans l'eau du puits de la résidence, soit 1210 µg/L. Cependant, ce garçon résidait à proximité d'un ancien site contaminé et ses problèmes cognitifs auraient pu être dus à d'autres contaminants dans l'eau (Woolf *et al.*, 2002).

1.4.2 Étude au Québec

Des études au Canada ont également mis en évidence l'association entre le Mn dans l'eau et le déficit cognitif. Dans le but d'examiner l'association entre la concentration de Mn dans l'eau potable et la cognition chez les enfants, une étude transversale a été réalisée par Bouchard *et al.* (2011) chez 371 enfants dans la province du Québec. Les expositions médianes de Mn dans l'eau étaient de 34 µg/L, donc bien inférieures aux études ailleurs dans le monde qui ont également examiné la neurotoxicité et le Mn dans l'eau (He *et al.*, 1994; Khan *et al.*, 2011). Cependant, les chercheurs ont observé une association statistiquement significative entre le Mn dans l'eau et les déficits cognitifs chez les enfants. Pour une augmentation de 10 fois la concentration de Mn, une baisse de 2,4 points de QI a été notée ($\beta = -2,4$; IC95%, -3,9, -0,9). Une analyse stratifiée par sexe entre le Mn dans l'eau et le QI a démontré une association plus marquée chez les filles, dont une augmentation de 10 fois la concentration de Mn associée à une baisse de 3,2 points de QI ($\beta = -3,2$; IC95%, -5,0 à -1,5).

1.4.3 Étude au Nouveau-Brunswick

Dans une autre étude transversale chez 259 enfants dans la province du Nouveau-Brunswick, une association entre l'exposition au Mn dans l'eau et la cognition a été observée, malgré les très faibles concentrations de Mn dans l'eau comparativement dans l'étude au Québec (concentration médiane de 5 µg/L) (Bouchard *et al.*, 2018). Cette étude a rapporté une association non significative entre le Mn dans l'eau et le QI Performance, dont une augmentation de 10 fois la concentration de Mn associée à une augmentation de 0,87 points de QI ($\beta = 0,87$; IC95%, -0,7, 2,4). Cependant, une analyse stratifiée par sexe a rapporté une association négative entre la concentration de Mn et le

QI Performance, mais non significative, chez les filles ($\beta=-0,44$; IC95%, -2,45, 1,56). Il y avait aussi une association significative entre la concentration de Mn dans les ongles et un QI Performance inférieur. De façon inattendue, pour les garçons il y avait une association positive significative entre le Mn dans l'eau et le QI Performance; une augmentation de 10 fois la concentration de Mn était associée à une augmentation de 2,7 points de QI ($\beta=2,66$; IC95%, 0,4, 4,9).

1.5 Règlementation de l'eau potable au Canada

En général, la gestion des ressources hydriques, y compris l'approvisionnement en eau potable, est la responsabilité de la province ou du territoire, à l'exception des Territoires du Nord-Ouest et du Nunavut où les Affaires autochtones et du Nord Canada sont responsables (Environnement et changement climatique Canada, 2018). Au Canada, les ministères fédéraux comme Santé Canada travaillent étroitement avec les gouvernements provinciaux et territoriaux pour créer des recommandations pour les concentrations maximales acceptables des substances dans l'eau potable (Santé Canada, 2016). Ces recommandations sont pour les paramètres microbiologiques (bactéries, virus, etc.), chimiques et physiques (métaux, émissions d'origine industrielle, etc.), radiologiques (émissions des réacteurs nucléaires ou d'origine naturelle, etc.) ont pour but de protéger la santé de la population la plus vulnérable (Santé Canada, 2016). Parmi ces paramètres, il existe également des recommandations d'ordre esthétique qui ont pour but d'améliorer l'acceptabilité de l'eau potable (gout, odeur, couleur). Les recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada sont établies par le Comité fédéral-provincial territorial sur l'eau potable. Ce comité qui est actif depuis plus de 20 ans, se réunit deux fois par année et travaille étroitement avec Santé Canada pour obtenir de l'expertise scientifique et des informations les plus récentes sur la recherche en qualité de l'eau potable (Santé Canada, 2006).

1.5.1 Règlementation du Mn d'eau potable au Canada

Au moment de l'écriture de ce mémoire, il existe une recommandation d'ordre esthétique pour le Mn dans le potable au Canada. Cette recommandation de 50 $\mu\text{g/L}$ qui

remonte à 1987 a pour but d'améliorer le gout de l'eau et de diminuer les tâches sur la lessive et la plomberie. Au niveau provincial et territorial, il n'existe aucune norme pour le Mn basé sur la santé, mais en Ontario, comme au niveau fédéral, il existe un objectif de 50 µg/L basé sur les critères esthétiques (Ontario, 2006). Cependant, dans une récente étude par l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ), une recommandation en matière de la santé de 60 µg/L pour le Mn dans l'eau a été proposée, sur la base d'études chez le rat (Valcke *et al.*, 2018).

Santé Canada (2016) est en train de proposer une nouvelle recommandation d'ordre esthétique de 20 µg/L et une concentration maximale acceptable en matière de santé de 100 µg/L fondés sur les effets neurotoxiques chez les rongeurs. Cette dernière recommandation sur un critère santé a été basée sur les résultats de trois études toxicologiques sur des rongeurs, en raison de leur concordance avec les études épidémiologiques montrant des déficits cognitifs en lien avec l'exposition au Mn (Beaudin *at al.*, 2013; Kern *et al.*, 2010; Kern et Smith, 2011). Ces études animales rapportent une dose minimale avec effet nocif observé (LOAEL) de 25 mg/kg poids corporel par jour. Cette LOAEL a été divisée par des facteurs d'incertitude de 1000 (extrapolation interspécifique (x10), variabilité intraspécifique (x10) et l'utilisation d'une LOAEL (x10)). Cette valeur de 0,025 mg/kg poids corporel par jour a été ensuite multiplié par le poids corporel moyen d'un nourrisson au Canada (7kg) et aussi multiplié par un facteur d'attribution estimatif de 0,5. Il est important de noter qu'un facteur d'attribution de l'eau potable de 0,2 est normalement suggéré dans les cas où l'eau potable ne constitue pas une source majeure d'exposition (Krishnan et Carrier, 2011). Cependant, dans le cas de Mn, les concentrations possiblement élevées dans les préparations pour nourrisson et dans l'eau utilisée pour préparer ces dernières ont été considérées puisque les préparations pour bébé représentent l'alimentation totale des nourrissons non allaités. Finalement, ce produit a été divisé par 0,75, qui représente la quantité estimative d'eau consommée par jour par un nourrisson. Le résultat final a donné une concentration maximale en matière de santé de 117 µg/L qui a été arrondi à 100 µg/L. Cette concentration a été établie pour protéger les nourrissons et les jeunes

enfants, la population surtout sensible aux effets neurotoxiques ainsi que les adultes contre une exposition chronique au Mn dans l'eau potable (Santé Canada, 2016).

1.5.1.1 Règlementations du Mn d'eau potable dans le monde

L'OMS a initialement créé une recommandation en matière de santé pour le Mn dans l'eau de 500 µg/L dans son premier document sur la qualité de l'eau potable publié en 1958 (Howe *et al.*, 2004). Cette recommandation a été basée sur des critères esthétiques (gout, taches sur la lessive et l'émail des éléments de plomberie comme les baignoires et toilettes). Ensuite, en 1984, cette valeur a été réduite à 100 µg/L, également afin de prévenir les mêmes problèmes d'ordre esthétique. En 1993, cette valeur a été remontée une fois de plus à 500 µg/L sur la base des études de toxicité chez l'animal, pour être réduite à 400 µg/L en 2004 sur la base de l'apport en Mn provenant d'un régime alimentaire moyen (ce qui assumait que cet apport ne cause pas d'effet néfaste). Finalement, en 2011, l'OMS a abandonné complètement sa recommandation pour le Mn parce qu'il jugeait qu'il n'est pas nécessaire d'établir une ligne directrice sanitaire pour ce métal dans l'eau étant donné que la valeur de 400 µg/L est supérieure aux concentrations normalement présentes dans l'eau potable. Pourtant, plusieurs études ont plutôt avancé qu'une recommandation à 400 µg/L n'était en fait pas suffisamment protectrice de santé humaine (Frisbie *et al.*, 2012; Ljung et Vahter, 2007). Des concentrations de Mn qui dépassent 400 µg/L ont été également observées dans plus de 50 pays (Frisbie *et al.*, 2012). D'autres juridictions ont adopté leurs propres directives basées sur la santé telle que 300 µg/L, établie par le ministère de la Santé du Minnesota (MDH, 2012) et 500 µg/L en Australie (NHMRC, 2011).

1.6 L'approche concentration repère

L'approche concentration repère (*benchmark concentration*) est largement acceptée comme étant la meilleure approche pour l'évaluation de risque pour la santé humaine en lien avec l'exposition à des contaminants environnementaux (AESA, 2017). La concentration repère est la concentration qui produit un niveau de réponse (c-à-d. un effet de santé néfaste) en excès par rapport à un groupe non-exposé (Bonvallot, 2009).

Ce niveau de réponse est prédéterminé selon une réflexion sur sa pertinence toxicologique et sociétale. Dans les études épidémiologiques, un niveau de réponse correspondant à une différence de 1 ou de 2% pour l'effet de santé analysé est généralement recommandé (ASEA, 2009). La limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% de la concentration repère est également calculée et peut être utilisée pour établir une recommandation offrant une marge de sécurité pour assurer la protection des individus les plus sensibles dans la population dans lequel l'échantillon est tiré (AESA, 2017). De plus, le calcul de la moyenne ou la médiane des différentes fonctions mathématiques pour modéliser la relation entre l'exposition et la réponse est également une approche recommandée (AESA, 2017). En outre, un raffinement supplémentaire de cette approche consiste à effectuer la modélisation de la concentration repère dans un cadre probabiliste, ce qui peut être fait au moyen de différents logiciels donc, le *Bayesian Benchmark Dose Analysis* (BBMD). Le BBMD fournit des estimations distributionnelles de la concentration repère et d'autres indicateurs importants dans l'évaluation de la relation dose-réponse (Shao et Shapiro, 2018).

1.7 Problématique

Les effets neurotoxiques du Mn, tels que les troubles de comportement et les déficits moteurs et cognitifs sont bien connus dans le milieu de travail suite à l'inhalation de particules de Mn. Or, de plus en plus d'études se sont également intéressées aux risques neurotoxiques d'une exposition à de plus faibles concentrations provenant de divers milieux de l'environnement. Notamment, des concentrations élevées de Mn sont retrouvées relativement fréquemment dans l'eau potable (Frisbie *et al.*, 2012). Ainsi, certaines études épidémiologiques ont suggéré que même une exposition plus faible de ce métal dans l'eau puisse être associée à une diminution des habiletés cognitives chez les enfants (Bouchard et al., 2011, 2018).

Il n'y a pas présentement de consensus sur la concentration de Mn dans l'eau à partir de laquelle des effets neurotoxiques sont observés, et qui pourrait donc servir de base pour établir des standards de qualité d'eau potable. Ainsi, l'approche concentration repère peut être employée pour estimer la concentration de Mn dans l'eau associée à un

niveau prédéfini d'effet. Cette approche utilisée en évaluation des risques toxicologiques pour la santé humaine est souvent recommandée pour fournir la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% de la dose repère, l'estimation de la concentration maximale acceptable qui assure la protection des individus les plus sensibles dans lesquelles l'échantillon est tiré. Ainsi, certains organismes réglementaires tels que Santé Canada étudient la possibilité d'adopter des mesures pour limiter l'exposition de la population à des concentrations de Mn qui ne seraient pas sécuritaires (Santé Canada, 2016). Notre étude pourra servir pour les organismes réglementaires qui voudraient éventuellement établir une concentration sécuritaire de Mn dans l'eau potable.

1.8 Objectif de recherche

Mon objectif était d'estimer les concentrations de Mn dans l'eau potable associées à différents niveaux prédéfinis de déficits cognitifs, soit des diminutions de 1%, 2% et de 5% de QI chez des enfants d'âge scolaire.

CHAPITRE II. MÉTHODOLOGIE

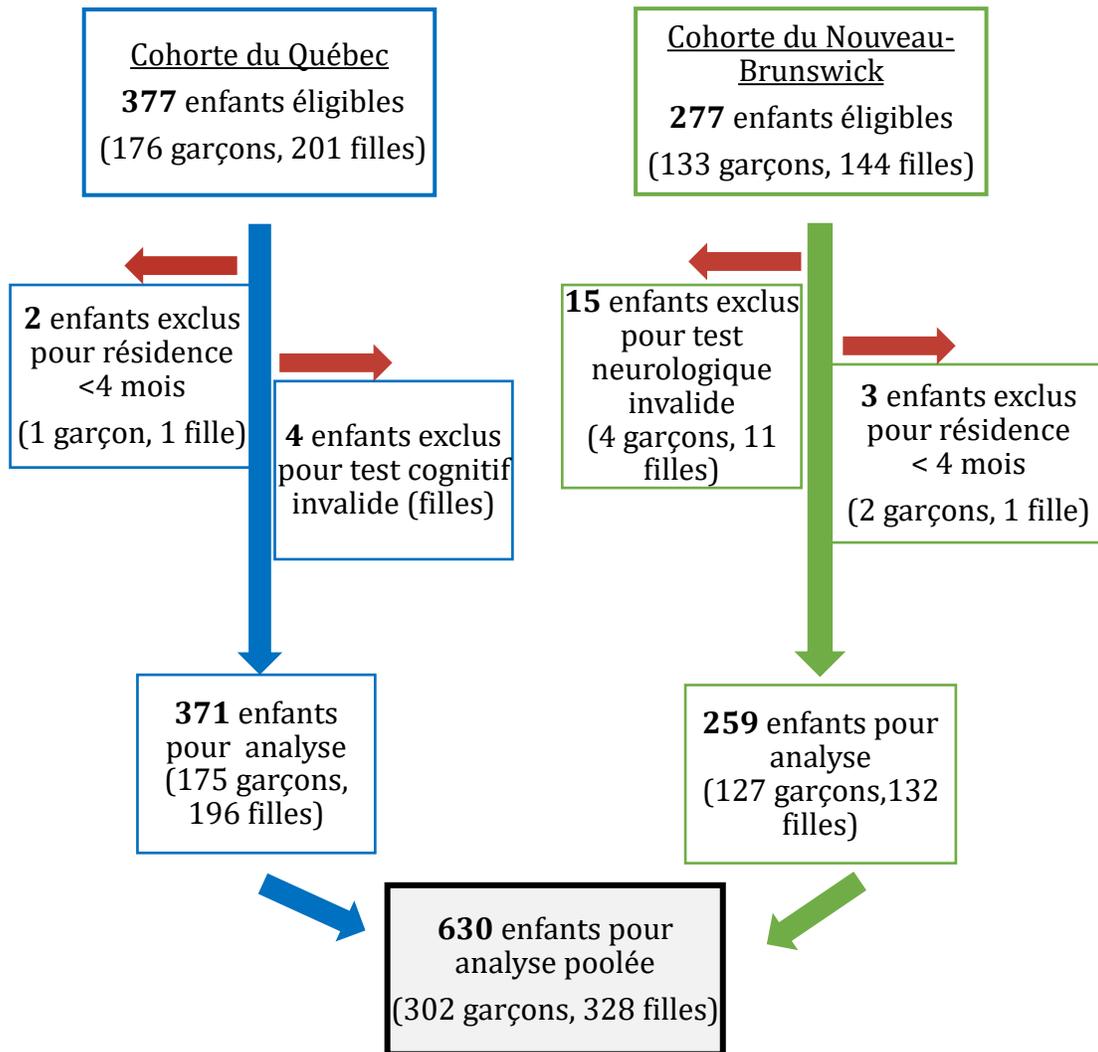
2.1 Design de l'étude

Notre présente étude a combiné les données de deux études transversales sur des enfants, majoritairement francophones, âgés de 5,9 à 13,7 ans, qui ont été recrutés dans des municipalités rurales et semi-rurales du Québec et du Nouveau-Brunswick. L'objectif principal de ces deux études était d'examiner l'association entre la concentration de Mn dans l'eau potable et la cognition chez les enfants. La première étude menée par Bouchard *et al.* (2011) de juin 2007 à juin 2009 a recruté 375 enfants du Québec. La seconde étude menée également par Bouchard *et al.* (2018), entre avril 2012 et avril 2014, a recruté 274 enfants du Nouveau-Brunswick.

2.1.1 Critères d'inclusion et d'exclusion

Les critères d'inclusion pour les enfants participant dans les deux études étaient d'avoir une durée de résidence de plus de quatre mois et une consommation d'eau du robinet à la maison. De plus, comme les enfants étaient recrutés via les écoles élémentaires, le fait d'être inscrit à l'école constituait aussi un critère d'inclusion. Pour la présente étude, nous avons exclu 19 enfants de l'analyse en raison des obstacles aux évaluations cognitives (des problèmes neurologiques majeurs, manque de collaboration, évaluation déjà suivie). L'échantillon analytique dans l'analyse poolée comprenait donc un total de 630 enfants, dont 302 garçons (47,9%) et 328 filles (52,1%). Une représentation schématique se trouve à la figure 1 pour montrer les étapes pour arriver à l'échantillon final.

Figure 1 : Étapes pour établir l'échantillon final dans l'analyse poolée



2.1.2 Considérations éthiques

Comme il n'y avait pas de collecte de données en soi dans la présente étude, les pratiques éthiques sont spécifiques aux études d'origines du Québec et du Nouveau-Brunswick. La confidentialité a été assurée en omettant des informations nominatives sur les sujets d'étude dans la base de données par codification. Les formulaires de consentement à la participation ont également été remplis verbalement par les enfants et par formulaire par les parents. Les enfants avaient également le droit de refuser leur participation malgré le consentement des parents. Aucun résultat de test de QI n'a été partagé avec les familles, comme stipulé dans le formulaire de consentement éclairé

signé par le parent. Tous les autres documents importants sont conservés dans une armoire verrouillée. Enfin, il est important de noter que des stratégies d'atténuation ont été mises en place pour les communautés avec une concentration élevée de Mn dans l'eau potable. L'étude au Québec a été approuvée par le Comité d'éthique de la recherche humaine de l'Université du Québec à Montréal tandis que l'étude au Nouveau-Brunswick a été approuvée par Santé Canada, le Centre de recherche Sainte-Justine et par l'Université de Moncton.

2.2 Collecte de données

Dans les deux études, celles au Québec et au Nouveau-Brunswick, la collecte des données s'est faite au cours de deux rencontres. La première étant à la maison pour l'échantillonnage de l'eau et l'administration du questionnaire de consommation d'eau où le parent a répondu aux questions liées à la source de l'eau du robinet (aqueduc municipal ou puits privé) et l'utilisation de l'eau. La deuxième rencontre a été réalisée dans des centres communautaires par un étudiant en psychologie qui administrait les tests d'évaluation cognitive aux enfants et un questionnaire aux parents sur diverses covariables importantes et sur des facteurs socioéconomiques tels que le niveau d'éducation, le revenu familial, la durée de résidence et l'intelligence maternelle.

2.2.1 Mesure de l'exposition

Dans les deux études, l'eau du robinet a été échantillonnée chez la maison de chaque participant et des informations sur son utilisation ont été également recueillies. Un prélèvement d'un échantillon d'eau a été fait à partir du robinet de la cuisine en utilisant une procédure standardisée (Van den Hoven et Slaats 2006). Cela comprend de laisser couler l'eau pendant 5 minutes, de fermer le robinet pendant 30 minutes et de recueillir les premiers 50 ml (étude au Québec) et 250 ml (étude au Nouveau-Brunswick). Les échantillons ont été acidifiés et entreposés à 4 °C. Ces échantillons d'eau ont été ensuite envoyés au laboratoire et la spectrométrie de masse couplée par plasma inductif (ICP-MS) a été employée pour mesurer les concentrations de Mn, ainsi que celles d'autres métaux (chrome, fer, cobalt, nickel, cuivre, zinc, arsenic, cadmium et plomb). Un

seul échantillon avait une concentration de Mn inférieure aux limites de détection. Les blancs de terrain, les normes de vérification, les répliques d'échantillons, ainsi que les matériaux de référence certifiés pour améliorer l'assurance qualité ont été appliqués pour améliorer l'assurance qualité.

2.2.2 Mesure du quotient intellectuel

Le quotient intellectuel (QI) est l'indicateur d'intelligence le plus souvent employé dans les études concernant les effets neurotoxiques des substances de l'environnement en raison de sa validité et fiabilité (Rohlman et Anger, 2006). L'échelle de Wechsler permet de dériver deux scores principaux, soit le QI Verbal et le QI Performance. Les scores du QI Verbal sont plus associés à la réussite en lecture, et les scores du QI Performance sont plus associés aux compréhensions spatiales et le raisonnement analytique (Wechsler, 1999). Pour la présente analyse, nous avons focalisé uniquement sur le QI performance comme variable d'intérêt, car il était associé plus souvent à l'exposition au Mn dans des études antérieures (Bouchard *et al.*, 2018, 2011; Wasserman *et al.*, 2006).

2.2.2.1 Échelle d'intelligence abrégée de Wechsler

Dans l'étude au Québec, nous avons utilisé l'Échelle d'intelligence abrégée de Wechsler (WASI) (Wechsler, 1999). Le WASI prend environ 30 minutes à compléter et est destiné aux personnes de 6 – 89 ans. Il est composé de quatre sous-tests. Le sous-test des Blocs mesure les compréhensions spatiales de résolution de problèmes et de manipulation, le Raisonnement par matrices mesure le raisonnement analytique non verbal, les Similitudes mesurent la formulation conceptuelle et abstraite et le sous-test du Vocabulaire mesure les connaissances verbales et la formulation des concepts. (Wechsler, 1999). Le QI verbal est calculé à partir des résultats des sous-tests de Vocabulaire et de Similitudes, tandis que le QI Performance est calculé à partir des sous-tests de Blocs et de Raisonnement par matrices.

2.2.2.2 Échelle d'intelligence de Wechsler pour les enfants, 4e édition

Dans l'étude au Nouveau-Brunswick, nous avons utilisé les mêmes 4 sous-tests que dans l'étude au Québec, mais tirés de l'Échelle d'intelligence de Wechsler pour les enfants, 4e édition (WISC-IV) (Wechsler, 2003). Le WISC-IV est un test d'intelligence pour les enfants de 6 – 16 ans qui comporte 15 sous-tests (10 de base et 5 supplémentaires) et prend environ 60-90 minutes à compléter. La fiabilité ou la cohérence interne de cet instrument est relativement bonne. En utilisant une méthode de fiabilité interne (comparant une moitié d'un test avec l'autre moitié), le coefficient de Pearson (r) pour le sous-test de blocs a été de 0,86, pour le sous-test similitudes, 0,89 pour le sous-test vocabulaire et 0,89 pour le sous-test de raisonnement par matrices (Williams *et al.*, 2003). De plus, la validité test-retest s'avérait également forte. Chez un échantillon de 243 enfants et intervalle test-retest de 32 jours, la corrélation entre les deux prises de WISC-IV était de 0,82 pour le sous test de blocs, 0,86 pour les similitudes, 0,92 pour le vocabulaire et 0,85 pour le raisonnement par matrices (Williams *et al.*, 2003).

2.2.2.3 Harmonisation des scores

Comme nous avons utilisé différents tests pour évaluer le QI dans les deux études, nous avons appliqué la procédure suivante pour harmoniser les résultats de QI Performance dans l'analyse poolée:

i) Convertir les scores bruts du WASI (étude au Québec) pour chaque enfant pour les deux sous-tests de Blocs et de Raisonnement par matrices en cotes standardisées du WISC-IV en utilisant le tableau d'équivalence dans le manuel (Wechsler, 1999). Ceci permet de mettre en commun les scores bruts des deux tests pour permettre à calculer la cote QI Performance ultérieurement.

ii) Additionner ces cotes standardisées des deux sous-tests pour calculer la cote QI Performance. Rappelons que le QI Performance est basé sur les sous-tests de blocs et de Raisonnement par matrices, donc la raison pour laquelle ces deux sous-tests sont additionnés ensemble.

iii) Convertir la cote QI Performance en scores Z séparément pour deux études. Le score Z permet de comparer les résultats de chaque enfant par rapport à la distribution des scores dans l'échantillon (Field, 2009). Pour calculer le score Z on prend la valeur observée et on soustrait la valeur moyenne de l'échantillon et on divise par l'écart type. Nous avons effectué la standardisation non pas sur l'échantillon total mais sur les enfants exposés à une faible concentration de Mn (c.-à-d. <20 µg/L). Nous avons choisi la concentration de 20 µg/L selon ce que jugent des études sur le Mn comme faible concentration de Mn dans l'eau (Santé Canada, 2016). Il était important d'utiliser le groupe à faiblement exposé comme groupe référence pour la standardisation ; si la standardisation avait été faite sur le groupe entier cela aurait fait disparaître l'association entre la concentration de Mn dans l'eau et le QI car les niveaux d'exposition n'étaient pas égaux dans les deux études.

iv) Convertir les scores Z en QI Performance. Le QI Performance permet de mieux interpréter et distinguer la performance cognitive de chaque enfant. Nous avons multiplié les scores Z par 15 et ajouté 100 pour obtenir des scores sur l'échelle de QI habituelle. Les évaluations de QI donnent habituellement une moyenne de 100 et un écart-type de 15 dans la population générale.

2.3 Analyses statistiques

2.3.1 Regroupement et nettoyage des données

Étant donné que notre étude comprenait des données provenant de deux différentes populations, les deux bases de données ont été combinées dans une seule pour l'analyse poolée. Pour ce faire, nous avons sélectionné des variables d'intérêt directement liées à notre objectif de recherche, dont le sexe, l'âge et le QI de l'enfant, ainsi que les concentrations de Mn et les covariables importantes en toxicologie neurodéveloppementale. Nous avons ensuite inspecté les variables des deux études séparément pour nous assurer qu'elles étaient codées de façon identique. Dans le cas contraire, les variables ont été recodées en différentes catégories ou en tertiles, comme dans le cas de l'intelligence maternelle, le revenu familial et le score HOME (*Home Observation Measurement of the Environment*). Les concentrations de Mn et de fer

provenant de l'eau du robinet ont été aussi transformées en log (base 10) puisqu'elles présentaient une distribution asymétrique vers la droite.

2.3.2 Ajustement du QI pour les facteurs de confusion

Avant de procéder à l'analyse de concentration repère, nous avons d'abord ajusté les scores de QI Performance pour les facteurs de confusion potentiels. Les variables suivantes ont été considérées pour inclusion dans le modèle d'ajustement: éducation maternelle (école secondaire, collège, études du premier cycle, études supérieures), intelligence maternelle (tertiles, calculés sur l'échantillon entier) telle que mesurée par *Raven's Progressive Matrices Test* (Raven *et al.*, 2003), revenu familial (9 catégories, utilisées comme variable continue), score HOME (tertiles), âge de l'enfant (mois), poids à la naissance (grammes), testeur du QI (8 catégories de psychométriciens) et la concentration du fer dans l'eau (continue).

Nous nous sommes assurés que les données respectaient les hypothèses statistiques pour l'utilisation dans le test d'ANOVA et dans le test de T. Par exemple, nous nous sommes assurés de la normalité de la variable dépendante pour chaque catégorie de la covariable avec le test de Shapiro-Walk et l'homogénéité des variances a été assurée avec le test de Levene. Pour les covariables d'au moins trois catégories qui ne se présentaient pas les variances homogènes (intelligence maternelle, éducation maternelle, revenue et psychométricien), nous avons plutôt effectué une ANOVA de Welch. Nous avons employé la stratégie suivante en deux étapes pour sélectionner les variables pour l'ajustement du QI :

1) Sélectionner des variables associées à la fois au QI Performance et à la concentration de Mn dans l'eau (transformée en log10) à une valeur p de $<0,2$ pour le test d'ANOVA ou pour le test de T. Ici, les variables de testeur QI et de revenu familial ont été sélectionnées.

2) Ajouter individuellement les variables restantes dans le modèle avec les deux covariables précédentes et les retenir si les estimations d'association changent de plus de 10 %. À cette étape, les variables éducation maternelle et intelligence maternelle ont été sélectionnées.

Ainsi, nous avons construit un modèle de régression linéaire prédisant les résultats de QI Performance au moyen des quatre variables susmentionnées. Nous avons sauvegardé les résidus non standardisés et ajouté la valeur moyenne du QI Performance séparément pour chaque étude afin d'amener les scores à l'échelle habituelle QI. Cette méthode a été employée dans une étude antérieure qui avait également pour but d'estimer la dose repère du plomb sanguin chez les enfants (Jacobson *et al.*, 2002). Nous avons utilisé SPSS Version 25,0 pour effectuer ces analyses (IBM Corporation, États-Unis).

2.3.3. Analyse concentration repère avec BBMD

La concentration de Mn dans l'eau potable associée aux déficits de QI Performance a été estimée en utilisant le *Bayesian Benchmark Dose Analysis System* (BBMD), disponible sur <https://benchmarkdose.org>. Les concentrations repères et les LIIC95% pour différents niveaux de risque ont été estimés, correspondant à une réduction de 1%, 2% et de 5% du QI Performance.

Les données exposition-réponse ont été modélisées en utilisant sept modèles différents, soit : linéaire, Hill, puissance, exponentiel 2, 3, 4 et 5). En raison des performances inadéquates de l'estimation de la concentration repère pour une relation concentration-réponse relativement plate, le modèle de Michaelis Menten a été exclu de la série de modèles pour l'analyse de la BMC. Nous avons modélisé les données en supposant que les scores de QI Performance étaient normalement distribués. Dans BBMD, l'algorithme Monte-Carlo par chaîne de Markov est utilisé pour générer un échantillon postérieur des paramètres du modèle pour former les estimations distributionnelles des paramètres. Les paramètres par défaut de cet 'algorithme ont été appliqués (une chaîne de 30,000 échantillons), ce qui est adéquat pour la plupart des données dose-réponse (Shao et Shapiro, 2018). Comme recommandé par l'EPA des États-Unis (EPA, 2012), le paramètre de puissance dans les modèles Hill, Power et d'Exponentiel 3 et 5 était limité à ≥ 1 pour éviter une pente extrêmement abrupte de la région à faible dose. L'exposition de fond au Mn a été fixée à 0 pour le calcul de la

concentration repère en raison du faible niveau d'exposition dans l'échantillon (19% de l'échantillon avait des concentrations de Mn dans l'eau < 1 µg/L).

Divers indicateurs ont été calculés pour vérifier le paramètre de Monte-Carlo par chaîne de Markov et des résultats d'ajustement du modèle. Par exemple, les valeurs pour la convergence et de la taille d'échantillon ont été rapportées dans BBMD pour évaluer la qualité de l'échantillonnage de Monte-Carlo par chaîne de Markov (c'est-à-dire, la convergence et la taille de l'échantillon). Ensuite, la valeur de p prédictive postérieure (PPP), qui est employée pour évaluer l'ajustement du modèle. Une valeur PPP comprise entre 0,05 et 0,95 suggère généralement un ajustement adéquat (Shao et Shapiro 2018). Troisièmement, en fonction de l'ajustement des modèles aux données, des poids ont été calculés pour chaque modèle, qui peuvent être utilisés pour comparer les modèles et pour quantifier l'incertitude. Une estimation de la concentration repère moyenne a été réalisée en fonction de l'intégration de la distribution de la concentration repère de chaque modèle et en tenant compte de leurs poids individuels. Par exemple, un modèle ayant un poids plus important (meilleur ajustement global) aurait une incidence plus grande sur le calcul de la concentration repère moyenne du modèle.

Nous avons effectué des analyses des concentrations repères sur l'ensemble du groupe d'enfants et sur des échantillons stratifiés par sexe puisque des études antérieures ont montré des associations différentielles entre les garçons et les filles (Bauer *et al.*, 2017, Oulhote *et al.*, 2014; -Rodriguez *et al.*, 2010). Il est aussi important de noter que nous n'avons pas utilisé des distributions des paramètres à priori (*priors*) dans nos modèles de la concentration repère.

CHAPITRE III.

A Pooled Benchmark Dose Analysis for Drinking Water Manganese Concentration and IQ Deficits in Children

Savroop S. Kullar¹; Kan Shao², Céline Surette³, Delphine Foucher³, Donna Mergler⁴, Pierre Cormier⁵, David C. Bellinger⁶, Benoit Barbeau⁷, Sébastien Sauvé⁸, Maryse F. Bouchard^{1 9}

¹ Department of Environmental and Occupational Health, School of Public Health, Université de Montréal, Quebec, Canada

² Department of Environmental and Occupational Health, School of Public Health, Indiana University, Bloomington, Indiana, USA.

³ Department of Chemistry and Biochemistry, Université de Moncton, New Brunswick, Canada.

⁴ Centre for Interdisciplinary Studies in Biology, Health, Society and Environment (CINBIOSE), Université du Québec à Montréal, Quebec, Canada

⁵ School of Psychology, Université de Moncton, New Brunswick, Canada.

⁶ Boston Children's Hospital, Harvard Medical School, Harvard University, Boston, MA, USA.

⁷ Department of Civil, Geological and Mining Engineering, École Polytechnique de Montréal, Quebec, Canada

⁸ Department of Chemistry, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada

⁹ CHU Sainte-Justine Research Centre, Montreal, Quebec, Canada

Corresponding author: maryse.bouchard@umontreal.ca

Acknowledgements: We express our gratitude to the families involved in both original studies for their participation. This research was supported by the Canadian Institutes for Health Research (Quebec Study) and by the Chemicals Management Plan of Health Canada (New Brunswick Study). M. F. Bouchard is supported by a Research Scholar Award from the Quebec's Fund for Health Research.

Conflicts of interest: The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract

Background: Manganese is an essential nutrient, but in excess, can be a potent neurotoxicant. We previously reported the findings from two cross-sectional studies on school-age children; showing that higher concentrations of manganese in drinking water were associated with significant deficits in IQ scores. Despite the common occurrence of manganese in ground water used for human consumption, its presence in drinking water is rarely regulated to protect human health.

Objective: To pool samples from two epidemiological studies and to use benchmark dose analysis to estimate the water manganese concentrations associated with pre-defined levels of cognitive impairment in children, i.e. drop of 1%, 2% and 5% in Performance IQ scores.

Methods: Data from two studies conducted in Canada were pooled resulting in a sample of 630 children (ages 5.9-13.7 years) with data on tap water manganese and IQ. We used the Bayesian Benchmark Dose Analysis (BBMD) to compute weight-averaged median estimates for the benchmark concentration (BMC) and the lower bound of the credible interval (BMCL), based on seven different concentration-response models.

Results: The concentration of manganese in drinking water associated with a decrease of 1% Performance IQ score was 121 $\mu\text{g/L}$ (BMCL, 70 $\mu\text{g/L}$); for a decrease of 2%, this concentration was 241 $\mu\text{g/L}$ (BMCL, 141 $\mu\text{g/L}$) and for a decrease of 5% it was 611 $\mu\text{g/L}$ (BMCL, 367 $\mu\text{g/L}$). In sex-stratified analyses, the manganese concentrations associated with a decrease of 1%, 2% and 5% Performance IQ in boys were 169, 339 and 854 $\mu\text{g/L}$ (BMCL, 68, 138 and 350 $\mu\text{g/L}$) and 73, 92, 158 $\mu\text{g/L}$ (BMCL, 8, 18 and 63 $\mu\text{g/L}$) for girls.

Conclusion: Studies suggest that a maximum acceptable concentration for manganese in drinking water should be set to protect children, the most vulnerable population, from manganese neurotoxicity. The present risk analysis can guide decision-makers responsible for developing these standards.

List of Abbreviations

BBMD	Bayesian benchmark dose
BMC	Benchmark concentration
BMCL	Lower 95% credible interval of the benchmark concentration
BMD	Benchmark dose
BMDL	Lower 95% confidence interval of the benchmark dose
BMR	Benchmark response rate
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	Environmental Protection Agency
GM	Geometric mean
GMSD	Standard deviation of the geometric mean
HOME	Home Observation for Measurement of the Environment
ICP-MS	Inductively coupled plasma-mass spectrometry
INSPQ	<i>Institut national de santé publique du Québec</i>
IQ	Intelligence quotient
LOAEL	Lowest observed adverse effect level
Mn	Manganese
NAWQA	National Water-Quality Assessment
NOAEL	No-observed-adverse-effect level
PPP	Posterior predictive p-value
\hat{r}	Convergence
SD	Standard deviation
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
WASI	Wechsler Abbreviated Scale of Intelligence™
WHO	World Health Organization
WISC-IV	Wechsler Intelligence Scale for Children™. 4th Edition

3.1 Introduction

Manganese (Mn) is an abundant, metallic element commonly present in air, soil, food, and water. It is an essential nutrient, but in excess can also interfere with the normal function of the nervous system. In occupational settings, manganese exposure has long been recognized as a potent neurotoxicant able to induce motor and cognitive impairments as well as neuropsychiatric symptoms (Rodier, 1955). More recently, several studies have examined the health risks arising from environmental exposures to this metal (O'Neal and Zheng 2015). Children are thought to be particularly at risk because of the unique processes underway in the developing nervous system, a higher dose of exposure per body weight, and their underdeveloped homeostatic mechanisms (Zoni and Lucchini 2013).

Several regions in North America and elsewhere around the world have high concentrations of manganese in water. Naturally elevated manganese levels can be found in ground water due to the weathering and leaching of manganese-bearing minerals. High manganese levels can also be released in surface water from anoxic sediments, a condition favored by the higher water temperature of lake or river prevailing at the end of the summer. Finally, surface and ground water with elevated manganese levels have been reported due to contamination from various human activities, such leaching from composting facilities or landfills, sewage water (He et al., 1994), mining waste (Howe et al., 2004) and buried dry-cell batteries (Kawamura et al., 1941).

Mounting evidence indicates that manganese from drinking water may pose risks for children's health, especially neurodevelopment (Bjorklund et al., 2017). In Bangladesh, where elevated concentrations of manganese are present in well-water, several epidemiological studies have reported association with neurodevelopmental deficits, including more externalizing and internalizing problem behaviours, lower academic achievement scores, and lower IQ scores (Khan et al., 2011; Khan et al., 2012; Rahman et al., 2017; Wasserman et al., 2006; Wasserman et al., 2011). The currently published data do not allow determining precisely the water manganese concentration that should be considered of concern for health. Indeed, several studies reported monotonic exposure-response relations without evidence of a threshold for effect (e.g.,

Wasserman et al., 2006 for IQ scores; Khan et al., 2011 for externalizing problems) whereas other studies only reported group analysis showing significantly lower cognition at water manganese levels above 400 µg/L (e.g., Khan et al., 2012) or 300 µg/L (He et al., 1994).

In Canada, at levels much lower than in Bangladesh, we reported cross-sectional studies among school-age children investigating the relation between water manganese concentrations and cognition (Bouchard et al., 2011; Bouchard et al., 2018), as well as attention, hyperactive behaviours, and motor function (Oulhote et al., 2014a). Our first study was conducted in the province of Quebec (Bouchard et al., 2011) and the second study was conducted in the province of New Brunswick (Bouchard et al., 2018) in order to replicate the findings from the first study in another group of children. In our Quebec study (n=375), we found that higher manganese levels in both water and hair were associated with lower IQ, with stronger manganese-related deficits for Performance IQ than verbal IQ; we did not find strong indication of sex-differences in these associations. In our New Brunswick study, water manganese concentrations were lower (median of 5 µg/L, versus 32 µg/L for the Quebec study) and we found that higher water manganese levels were rather associated with better Performance IQ scores in boys, and there was no significant association in girls (n=132 girls and 127 boys). We also explored whether different biomarkers of exposure were associated with IQ scores and found that higher concentrations of manganese in nails were significantly associated with worse Performance IQ scores in girls (Bouchard et al., 2018).

Despite the relatively common occurrences of elevated concentrations of manganese in water, levels of manganese in drinking water are rarely regulated. The U.S. EPA has set a secondary standard for manganese of 50 µg/L for aesthetic reasons (colour, staining and taste) and a non-regulatory health advisory for lifetime exposure of 300 µg/L in drinking water (U.S. EPA, 2004). The WHO health-based value of 400 µg/L has been discontinued while asserting that such elevated manganese levels are not normally found in drinking-water (WHO, 2011), despite evidence to the contrary (Frisbie et al., 2012). Currently, there is no official health-based guideline in Canada, but recently a maximum acceptable concentration of 100 µg/L was proposed based on neurological

effects observed in neonatal rats (Health Canada, 2016). More recently, a value of 60 µg/L was also proposed by the *Institut national de santé publique du Québec* based on the same animal studies and data from other regulatory bodies (Valcke et al., 2018). An analysis based on human data would be preferable to issue recommendations for regulatory purpose of a maximum allowable drinking water manganese levels.

Benchmark dose (BMD) modeling is widely accepted as the best approach for dose-response assessment in human health risk assessment (European Food Safety Authority (EFSA) Scientific Committee et al., 2017). The BMD is the dose (or concentration) that produces a pre-specified change in an adverse response compared to the background response. This predetermined change is the benchmark response (BMR) and a higher value results in a less conservative BMD. Alongside the BMD, the lower bound of the 95% confidence interval for the BMD is also calculated (BMDL) and can be used to derive a criterion for regulatory purpose that provides a margin of safety to ensure protection of the most sensitive individuals. Furthermore, an additional refinement of this approach is to carry out BMD in a multi-step probabilistic framework using the Bayesian Benchmark Dose Analysis System (BBMD) (Shao and Shapiro, 2018). This recent method is capable of analysing epidemiological exposure-response data (e.g., unique exposure level and response for each subject) and provides distributional estimates for BMC and other important metrics in dose-response assessment.

The objective of the present study was to use pooled data from our two previously conducted cross-sectional studies (Bouchard et al., 2011; Bouchard et al., 2018) to estimate the concentration of manganese in drinking water associated with three different levels of reduction in Performance IQ (i.e., decrease of 1%, 2%, and 5%) using the BBMD approach.

3.2 Methodology

3.2.1 Study populations

This pooled analysis combines data from two separate cross-sectional studies of children ages 5.9-13.7 years-old, recruited through French-speaking elementary schools located in rural municipalities in Canada. The main objective of both studies was to

examine the association between manganese concentration in drinking water and cognition in children. Both studies included participants who had been living in their current home for more than four months, and whose house was supplied by ground water. The first study led by Bouchard et al., (2011) from June 2007 to June 2009, recruited 375 children from the province of Quebec. The second study also led by Bouchard et al., (2018), conducted between April 2012 and April 2014, included 274 children from the province of New Brunswick. However, we excluded 19 children from both studies for the analysis because of barriers to cognitive testing (e.g., major neurological problems, not collaborating, already completed test). The analytical sample included a total of 630 children, including 302 boys (47.9%) and 328 girls (52.1%). The required institutional human research ethics boards approved both studies. We obtained signed informed consent from the parents and verbal consent from the children prior to data collection.

3.2.2 Measurement of Manganese in Tap Water

We visited the home of each participant to sample tap water and to collect information on the use of tap water in both studies. We collected a water sample from the kitchen tap using a standardised procedure (Van den Hoven and Slaats 2006). This includes letting the water run for 5 mins, closing the tap for 30 mins, and collecting the first 50 mL (Quebec study) and 250 ml (New Brunswick study). We acidified and stored samples at 4 C. We used inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) to measure manganese concentrations, as well as other metals (Chromium, iron, cobalt, nickel, copper, zinc, arsenic, cadmium and lead). Only one sample had a manganese concentration below the detection limits. We used method blanks as well as field blanks, verification check standards, sample replicates, as well as certified reference materials to improve quality assurance.

3.2.3 IQ Assessment

In the Quebec study, we used the Wechsler Abbreviated Intelligence Scale for Children (WASI) (Wechsler, 1999), which consists of four subtests (Block Design, Matrix

Reasoning, Similarities and Vocabulary). In the New Brunswick study, we used these same subtests, but from the Wechsler Intelligence Scale for Children, 4th edition (WISC-IV) (Wechsler 2003). For both studies, this yielded a Performance and a Verbal IQ score. We tested children using the Canadian French version of the tests. In both studies, a senior psychologist trained the testers (graduate students in psychology) until full compliance with the test manuals. IQ testers were blind to the exposure status of children. Children completed the IQ tests in a room free of distraction in community centers or schools over the weekend to ensure that children were well rested to perform at their best.

For the present pooled analysis, we focused on Performance IQ as the outcome of interest since it was most reliably associated with manganese exposure in previous studies (Bouchard et al., 2011; Bouchard et al., 2018; Wasserman et al., 2006). Since we used different instruments to assess cognition in the two studies, we applied the following procedure to harmonize Performance IQ scores in the pooled analysis: i) We converted WASI standardised scores for the two subtests into equivalent WISC-IV standardised scores using the equivalency table in the manual (Wechsler, 1999). Standardised scores are intermediate scores based on raw test scores and are required before calculating IQ. ii) We summed these standardised scores for Block Design and Matrix Reasoning subset scores to compute the performance score. iii) Performance scores were converted into z-scores separately for two studies, using 157 children from the Quebec study and 187 from the New Brunswick cohort who were exposed to low water manganese levels (i.e., <20 µg/L) as the standardisation group. iv) Performance z-scores were multiplied by 15 and added by 100 to bring scores on the usual IQ scale. Since exposures levels were higher in the Quebec cohort, it was important to create a standardisation group for the calculation of z-scores based on low exposure levels to allow for equal comparisons.

3.2.4 Adjustment of IQ scores for Potential Confounders

Prior to conducting the BMC analysis, we adjusted Performance IQ scores for potential confounders, considering the following variables: maternal education (high

school or less, at least some college, undergraduate degree, graduate degree), maternal nonverbal intelligence as measured by Raven's Progressive Matrices Test (terciles), household income (9 categories, used as a continuous variable), Home Observation Measurement of the Environment (HOME) score (terciles), child age (months), birth weight (grams), IQ tester (8 psychometricians), and iron concentration in water. We used the following strategy to select variables for IQ adjustment. First, we selected variables associated with both Performance and water manganese concentration (\log_{10} -transformed) at $p < 0.2$ (household income and IQ tester were selected). Second, the remaining variables were individually added in the model with the two previous covariates and selected if the association estimates changed by more than 10% (maternal education and maternal nonverbal intelligence were selected).

We conducted multiple regression analysis on Performance IQ scores and the above-mentioned variables, saved the unstandardised residuals, and added the mean value of Performance IQ separately for each study to bring scores to the usual IQ scale as the response variable. This method was used in a previous study also aimed at calculating benchmark-dose for blood lead in children (Jacobson et al., 2002). We used SPSS Version 25.0 to carry out these analyses (IBM Corporation, USA).

3.2.5 Determining the Critical Effect Level with BBMD

The benchmark concentration of manganese in drinking water in relation with predefined Performance IQ scores deficits was estimated using the Bayesian Benchmark Dose Analysis System (BBMD), a web-based tool used for probabilistic risk assessment available at <https://benchmarkdose.org> (Indiana University School of Public Health, USA). BMCs and BMCLs (defined as the 5th percentile of the posterior sample in BBMD) for different levels of adversity were estimated, i.e., BMRs corresponding to a reduction in 1%, 2% and 5% of Performance IQ points.

Concentration-response data were modeled using the seven available continuous model functions (i.e., linear; hill; power; exponential 2, 3, 4, and 5). Because of inadequate performance in BMC estimation for relatively flat concentration-response relationship, the Michaelis-Menten model was excluded from the model suite for BMC

analysis. We modeled the response data using the assumption that Performance IQ scores were normally distributed. In BBMD, the Markov Chain Monte Carlo (MCMC) algorithm is used to generate posterior sample of model parameters to form the distributional estimates of the parameters. Default settings for the MCMC algorithm (one chain with 30,000 samples with the first half discarded as burn-in) were applied as this is adequate for most dose-response data (Shao and Shapiro 2018). As recommended by the U.S. EPA, the power parameter in the Hill, Power and Exponential 3 and Exponential 5 models was restricted to ≥ 1 to avoid extremely steep slope in the low dose region (U.S. EPA, 2012). The background manganese exposure was set to 0 $\mu\text{g/L}$ for BMC calculation since a large fraction of our sample had such low manganese levels in water (18.6% of the sample had concentration below 1 $\mu\text{g/L}$).

Various indicators were computed to verify the adequacy of the MCMC setting and model fitting results. First, the \hat{r} and N_{eff} values reported in BBMD are used to evaluate the quality of MCMC sampling (i.e., convergence and effective sample size, respectively). Then, the posterior predictive p-value (PPP) value is used to assess model fit. A PPP value between 0.05 and 0.95 generally suggests adequate fit (Shao and Shapiro 2018). Third, based on how well the models fit the data, weights were computed for each model, which can be used to compare the models and quantifies model uncertainty. A model-averaged benchmark concentration estimation was performed based on the integration of the distribution of BMC estimated from each model by considering their individual model weights. For example, a model with greater weight (better overall fit) would have greater bearing on the calculation of the model-averaged benchmark concentration.

Finally, we ran the analyses on the entire group of children and on sex-stratified samples since previous studies showed differential associations for boys and girls (Bauer et al., 2017; Bouchard et al., 2018; Oulhote et al., 2014b; Riojas-Rodriguez et al., 2010).

3.3 Results

Table I presents descriptive statistics on tap water manganese concentrations and Performance IQ of the pooled sample of 630 children. The pooled sample comprises slightly more children from the Quebec study than the New Brunswick study (59% and

41%, respectively). The proportion of boys in the pooled sample was similar to that of girls (48% and 52%, respectively). The average age was 9.3 years, ranging from 5.9 to 13.7 years. Maternal education was high with nearly 83% of the mothers attaining some college or university education. Finally, 80% of children had been living in the same household for over three years, whereas only 6% of children lived in the current house for less than a year.

Household manganese concentrations in the pooled sample varied from 0.01 µg/L to 2701 µg/L with a geometric mean of 12.3 µg/L and an arithmetic mean of 84.8 µg/L. Thirty-six percent of children (103 boys and 123 girls) were exposed to tap water manganese levels above the current Health Canada aesthetic guideline of 50 µg/L and 4% (8 boys and 17 girls) were exposed to levels higher than 400 µg/L (i.e., the former WHO guideline). Water manganese levels were higher in the Quebec study than in the New Brunswick (i.e., geometric mean of 20.3 µg/L and 6.2 µg/L, respectively). Among different family and child characteristics, only family income was significantly associated with water manganese concentrations ($p=0.002$), water manganese being higher in households with lower income. Water manganese concentrations were not associated with characteristics such as child age, sex, HOME score, maternal nonverbal intelligence, or education.

Metals other than manganese were also measured in tap water. The median concentrations of manganese and other metals in household tap water were similar between children excluded and included from the study (Table S-I in Appendix B). The tap water of 0.3% of children (2 girls) surpassed the guideline for lead (health-based guideline of 10 µg/L), 3% (11 boys and 8 girls) for arsenic (health-based guideline of 10 µg/L), and 22% (71 boys and 67 girls) for copper (health-based guideline of 1000 µg/L) (Health Canada, 2016); presented in Table S-II of the Appendix C.

Mean Performance IQ scores were significantly different with respect to maternal education, maternal intelligence, and family income, with better scores across higher categories of these variables. Performance IQ scores were significantly higher in boys than girls. However, Performance IQ scores were not associated with child age and HOME scores.

Table I: Household water manganese concentrations ($\mu\text{g/L}$) and Performance IQ in relation with family and child characteristics (n=630)

Characteristic	No.	(%)	Mn (GM)	(GSD)	p-value	PIQ (SD)	p-value
Study					<0.001		0.051
Quebec	371	(59)	20.2	(2.6)		97.9 (15)	
New Brunswick	259	(41)	6.2	(3.0)		100.3 (15)	
Age (years)					0.234		0.459
5 – 8 years	199	(32)	14.1	(3.0)		97.9 (15)	
8 – 11 years	296	(47)	13.2	(2.7)		99.6 (15)	
11 – 14 years	135	(21)	9.1	(2.7)		98.8 (13)	
Sex					0.241		0.057
Boy	302	(48)	11.1	(2.9)		100.1 (16)	
Girl	328	(52)	13.9	(2.9)		97.9(14)	
HOME score					0.793		0.61
Low (1 – 3)	315	(50)	12.1	(2.8)		99.7 (14)	
Medium (4)	230	(37)	13.5	(3.0)		97.7 (15)	
High (5+)	85	(14)	11.2	(2.9)			
Maternal education					0.245		<0.001
High school or less	78	(18)	16.4	(1.1)		91.5 (14)	
College/technical	203	(46)	12.6	(2.1)		98.5 (14)	
Undergraduate	140	(31)	10.6	(1.1)		102.4(15)	
Graduate	25	(6)	5.6	(1.2)		105.4(14)	
Maternal intelligence					0.236		<0.001
Lowest tercile	168	(38)	15.0	(3.2)		94.5 (15)	
Middle tercile	170	(38)	11.4	(2.9)		99.0 (14)	
Highest tercile	106	(24)	9.0	(2.6)		105.0 (15)	
Family income					0.002		<0.001
< \$50k	143	(32)	19.6	2.6		94.5 (15)	
\$50k – \$80k	163	(37)	12.2	2.8		99.9 (14)	
> \$80k	140	(31)	7.0	2.3		102.4 (15)	

GM: geometric mean ($\mu\text{g/L}$); GSD: geometric standard deviation; Mn: Manganese concentration in water ($\mu\text{g/L}$); PIQ: Performance IQ

Table II presents the estimated individual models and model-averaged BMCs and BMCLs for a BMR of 1%, 2% and 5% IQ decrease, for the sex-aggregated and sex-stratified data. As expected, BMCs and BMCLs increased with increasing BMR. The estimated BMCs and BMCLs varied greatly between the different models. For instance, BMCs for a BMR of 1% varied between 58 (exponential 4) and 8,809 $\mu\text{g/L}$ (Hill) in analyses including both sexes. However, model weights indicate that the linear and

exponential 2 models had much larger loading than the five other models (i.e., weights of 44.0 and 50.2%, respectively), which is not only because both models have a relatively good fit to the data, but also because they only have two parameters (while others have three or four parameters). Focusing on these two models with the highest weights, we observed that they yielded similar BMCs and BMCLs. For a BMR of 1%, the BMC was 128 $\mu\text{g/L}$ for the linear model and 115 $\mu\text{g/L}$ for the exponential 2 model (BMCLs, 81 and 71 $\mu\text{g/L}$, respectively). For a BMR of 2%, the BMC was 256 $\mu\text{g/L}$ for the linear model and 231 $\mu\text{g/L}$ for the exponential 2 model (BMCLs, 161 and 143 $\mu\text{g/L}$, respectively). For a BMR of 5%, the BMC was 640 $\mu\text{g/L}$ for the linear model and 587 $\mu\text{g/L}$ for the exponential 2 model (BMCLs, 404 and 362 $\mu\text{g/L}$, respectively). Finally, the model-averaged estimated yielded the following BMCs for BMRs of 1, 2, and 5%: 121, 241, and 611 $\mu\text{g/L}$ (BMCLs, 70, 141, 367 $\mu\text{g/L}$, respectively). The results when running the analysis excluding two outliers were very similar.

Table II: Water manganese BMCs and BMCLs ($\mu\text{g/L}$) for the total and sex-stratified sample based on benchmark response rates of 1, 2 and 5% reduction in Performance IQ

Model					↓ 1%		↓ 2%		↓ 5%	
					Performance IQ		Performance IQ		Performance IQ	
Both sexes (n=630)	Wt. (%)	PPP	\hat{r}	N_eff	BMC	BMCL	BMC	BMCL	BMC	BMCL
Linear	44	0.49	1.00	7886	128	81	256	161	640	404
Power	<1	0.49	1.00	7836	800	126	1125	240	1749	553
Hill	<1	0.49	1.00	533	8809	133	10122	225	12273	490
Exponential 2	50	0.50	1.00	7117	115	71	231	143	587	362
Exponential 3	<1	0.49	1.00	2401	503	108	762	206	1324	481
Exponential 4	4	0.49	1.00	10317	58	17	125	41	411	186
Exponential 5	<1	0.43	1.05	32	98	34	119	47	333	120
Model-average					121	70	241	141	611	367
Boys (n=302)										
Linear	44	0.49	1.00	6345	156	70	313	141	781	352
Power	5	0.50	1.00	2374	1196	332	1322	487	1504	803
Hill	<1	0.49	1.00	731	6723	508	7734	632	9357	831
Exponential 2	44	0.48	1.00	5948	152	65	306	131	778	333
Exponential 3	5	0.49	1.00	2751	1185	379	1302	526	1473	815
Exponential 4	2	0.50	1.01	60	101	17	249	45	820	304
Exponential 5	<1	0.49	1.00	566	640	235	734	293	916	405
Model-average					169	68	339	138	854	350
Girls (n=328)										
Linear	14	0.48	1.00	7317	120	73	239	147	598	367
Power	<1	0.49	1.00	915	1643	118	1926	226	2321	530
Hill	10	0.50	1.01	483	92	41	104	60	144	88
Exponential 2	18	0.49	1.00	6782	98	59	197	118	500	299
Exponential 3	<1	0.48	1.00	916	1283	92	1595	177	2101	421
Exponential 4	36	0.50	1.00	7509	16	6	35	14	117	48
Exponential 5	22	0.49	1.00	1516	81	39	89	51	106	72
Model-average					73	8	92	18	158	63

Note: Wt: Weight; BMC, benchmark concentration; BMCL, lower bound of benchmark concentration; PPP posterior p-value;

Figure 2a and figure 2b present the linear function for the relation between tap water manganese concentration and Performance IQ scores adjusted for covariates (maternal education, maternal intelligence, household income, and IQ tester), for the entire sample of 630 children. A regression analysis between manganese in water and Performance IQ showed that higher manganese was significantly associated with poorer scores for the entire group (β : -0.008, 95% confidence intervals [95% CIs]: -0.14, -0.002). In sex-stratified analyses, the association was significant in girls (β : -0.009, 95% CIs: -0.016, -0.002) but not in boys (β : -0.004, 95% CIs: -0.015, 0.007).

Figure 2a. Linear function of the concentration-response plot for tap water manganese concentration ($\mu\text{g/L}$) and Performance IQ scores, adjusted for covariates (maternal education, maternal intelligence, household income, and IQ tester). The red line is the average and the blue dotted lines represents the 95% credible intervals. total sample (n=630)

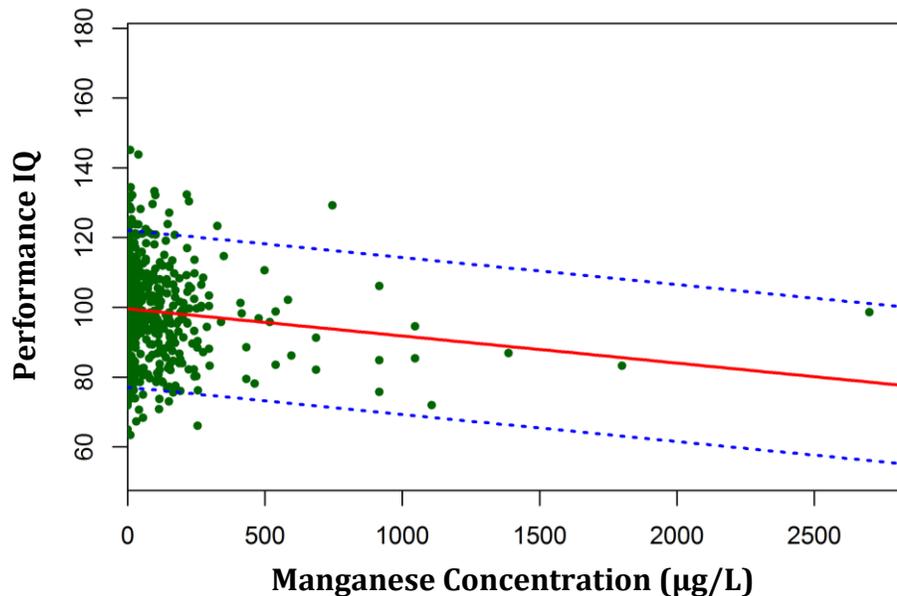
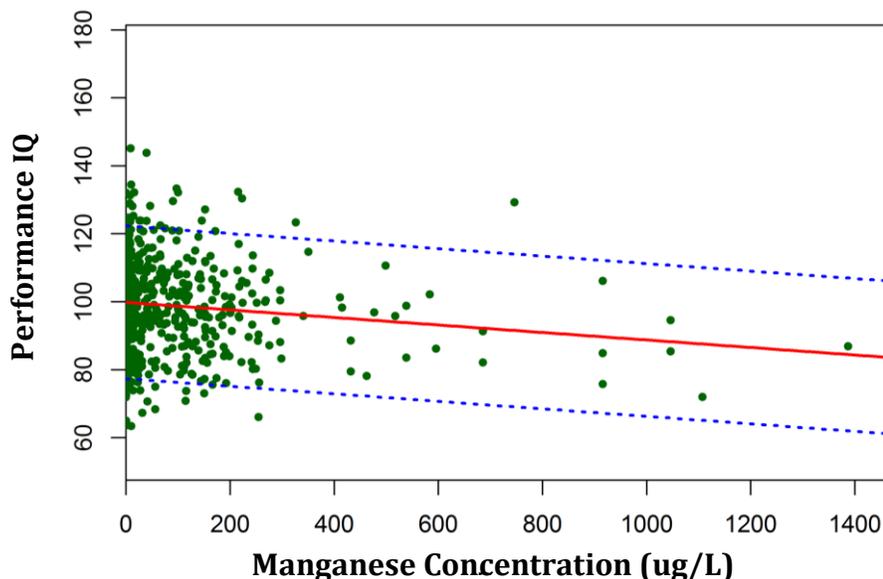


Figure 2b. Linear function of the concentration-response plot for tap water manganese concentration ($\mu\text{g/L}$) and Performance IQ scores, adjusted for covariates (maternal education, maternal intelligence, household income, and IQ tester). The red line is the average and the blue dotted lines represents the 95% credible intervals. Excluding two outliers $>1500 \mu\text{g/L}$ ($n=628$)



The sex-stratified model for boys also showed that the linear and exponential 2 models had the highest weights. The BMC from the linear model was very similar to that from the exponential 2 model (i.e., for a BMR of 1%, 156 and 152 $\mu\text{g/L}$, respectively). The analyses including only boys resulted in BMCs that were slightly higher than the analyses including both sexes. The model-averaged estimates for boys yielded the following BMCs for BMRs of 1, 2, and 5%: 169, 339, and 854 $\mu\text{g/L}$ respectively (BMCLs, 68, 138, 350 $\mu\text{g/L}$, respectively).

The sex-stratified models for girls had a different repartition of weights, with the exponential 4 having the largest weight (35.8%), following by exponential 5 (21.9%), exponential 2 (18.2%), linear (13.7), Hill (10.0%), and exponential 3 and power (both 0.2%). The model-averaged estimates for girls yielded the following BMCs for BMRs of 1, 2, and 5%: 73, 92, and 158 $\mu\text{g/L}$ respectively (BMCLs, 8, 18, 63 $\mu\text{g/L}$, respectively). Hence, BMCs and BMCLs for girls were much lower than those for boys, or than those for both sexes modeled together.

3.4 Discussion and Conclusions

In the present study, we report results of Bayesian BMC analyses for the concentration of manganese in drinking water in relation with different levels of cognitive deficits, indicative of neurotoxic effects in children. We used pooled data from two cross-sectional epidemiological and adjusted cognitive scores for important potential covariates prior to the BMC analyses. Importantly, most children in this analysis have probably been exposed to the same concentration of water manganese for several years since 80% had been living in the same house for more than 3 years and repeated water sampling in the same house showed stable concentration over the year (Bouchard et al., 2011).

We fitted seven different models to the data of the entire sample, and the PPP values indicate that all the models had an adequate fit, which further justified the use of these models for BMC analyses. Two concentration-response models with relatively simple format (i.e., the linear and exponential 2 models) had dominantly high model weights and produced very consistent BMC and BMCL estimates. For a BMR of 1%, the BMC was 128 $\mu\text{g/L}$ for the linear model and 115 $\mu\text{g/L}$ for the exponential 2 model (BMCLs, 81 and 71 $\mu\text{g/L}$, respectively). BMCs and BMCLs resulting from model-averaged analysis, rather than specific model analysis, are recommended for use in regulatory standards (European Food Safety Authority (EFSA) Scientific Committee et al., 2017). Hence, the most useful metric for an eventual regulatory criterion might be the model-averaged BMC and BMCL. The BDCL is usually considered more appropriate than BMC for setting regulatory standards because it provides protection for sensitive individuals (European Food Safety Authority (EFSA) Scientific Committee et al., 2017).

The magnitude of excess risk considered acceptable, evidently, drives the BMD analysis. This consideration, however, depends on societal values, the level of scientific evidence, and applicability. The European Food Safety Authority recommends using an impairment that would reflect an effect size that is negligible or non-adverse [24]. In the present study, the benchmark responses of 1% and 2% IQ point reduction were similar to those in previous benchmark dose analyses for lead (Budtz-Jorgensen et al., 2013) and polychlorinated biphenyls (PCBs) (Jacobson et al., 2002). We also included a BMR of 5%

reduction in Performance IQ, similar to other studies on PCBs (Jacobson et al., 2002) and methylmercury (National Research Council (US) Committee on the Toxicological Effects of Methylmercury 2000). However, this magnitude of cognitive deficit should be deemed too serious of an effect in a public health perspective. The crucial importance of optimal cognitive functioning for several long-term outcomes, including educational attainment, lifetime earnings (Grosse et al., 2002), and incidence of cardio-vascular disease (Batty et al.), should be considered when choosing the acceptable excess risk. For instance, 1 single IQ point is associated with a 4.5% difference in probability of graduating from high school (Grosse et al., 2002).

The findings suggest considering sex-related differences when estimating maximum concentration limits for manganese in drinking water. Indeed, the manganese level in water associated with a given BMR was much lower in girls than in boys, reflecting possible increased sensitivity of girls. Numerous studies have noted a differential association between boys and girls for environmental manganese exposure and neurodevelopment (Bauer et al., 2017; Bouchard et al., 2018; Chiu et al., 2017; Hernandez-Bonilla et al., 2011; Hernandez-Bonilla et al., 2016; Menezes-Filho et al., 2014; Riojas-Rodriguez et al., 2010; Torres-Agustin et al., 2013). However, the BMCL from sex-stratified analyses might be overly low because this estimate is very sensitive to sample size, which is reduced in the analysis including only girls. Thus, this BMCL based on sex-stratified analysis might not be appropriate for regulatory purposes, because it would result in a guideline too stringent. Larger sample sizes are needed to recommend a sex-stratified BMCL.

Currently, there are few guidelines for manganese in drinking water. The WHO had a guideline at 400 µg/L but it was dropped in the latest edition (WHO, 2011). The U.S EPA has a non-regulatory health-based guideline of 300 µg/L (U.S EPA, 2004). These concentrations are close to the level associated with a reduction of 5% of Performance IQ scores, since the model-averaged BMCL in the sex-aggregated sample was 367 µg/L. Health Canada recently proposed a health-based guideline of 100 µg/L (Health Canada, 2016) along with *the Institut national de santé publique du Québec* which proposes a guideline of 60 µg/L. Thus, both of these values would be close to the concentration

associated with a reduction of 1% of Performance IQ scores for which the BMC was 121 µg/L and the BMCL was 70 µg/L for the model-averaged analysis including both girls and boys.

Elevated manganese concentrations in ground water is common in several countries including Sweden (Ljung and Vahter 2007), Vietnam (Agusa et al., 2006), and Bangladesh (Wasserman et al., 2006). Elevated levels are found mostly in ground water, and 48% of the U.S. population depends on ground water (U.S. Geological Survey, 2005). As part of the National Water-Quality Assessment (NAWQA) Program, manganese levels were measured in public wells from 1993-2007 (National Water-Quality Assessment (NAWQA) Program 2018). Table III shows the distribution of concentrations in 808 public wells and shows that manganese is often found above levels corresponding to Performance IQ scores reduction of 1 or 2% reported in the present analysis. Data show that 11.9% of wells had manganese levels higher than those corresponding to the BMCL for a 1% decrease in Performance IQ (i.e., 70 µg/L), 8.2% for a decrease of 2% (i.e., 141 µg/L), and 3.7% for a decrease of 5% (i.e., 367 µg/L). Although these percentages might seem low, the large number of people being exposed implies that the public health burden is substantial. Exposure to elevated levels of manganese in drinking water is preventable, since existing water treatments are effective at greatly reducing concentrations (Carriere et al., 2011).

Table III. Percentage of wells above selected manganese concentrations in 808 public wells sampled by the U.S. National Water-Quality Assessment (NAWQA) Program (1993-2007).

Percentile	Manganese in public wells (µg/L)
99	726
98	541
97	410
96	344
95	251
90	97
85	46
80	30

The present analysis had limitations related to the design of the two studies used to perform the BMC estimates. Since the data were cross-sectional, it is not clear whether cognitive deficits were the result of cumulated exposure and/or exposure during a critical developmental period. The limitation pertaining to the cross-sectional design of the data used is mitigated by the fact that most children have probably been exposed to the same concentration of water manganese for several years since residence duration was long and manganese levels are stable in time (Bouchard et al., 2011; Barbeau et al., 2011). Still, it is important to consider that infants and young children could be at elevated risk because of increased absorption resulting from their underdeveloped homeostatic mechanisms (Winder, 2010). A particular concern is the high ingested dose of manganese in early life resulting from the consumption of soya-based formula containing high a level of manganese (Hozyasz and Ruszczynska 2004), mixed with tap water with high manganese content. Another limitation is that we based our estimate of exposure to water manganese on the concentration measured in tap water at home, which might introduce some misclassification of exposure since children may consume water from other sources. Iron status is another potentially important factor since greater blood manganese levels has been observed in individuals with lower iron status (Finley et al., 1994; Kim and Lee 2011; Oulhote et al., 2014b). However, iron deficiency is uncommon in Canadian children, with only 3% of those ages 6–11 years having insufficient hemoglobin (Cooper et al., 2012). Finally, some polymorphisms could also confer vulnerability to manganese exposure (Wahlberg et al., 2018). Variability in response to toxics is to be expected, and the use of the BMCL (rather than the BMC) for setting regulatory standards should better encompass the range of sensitivity in the population.

In conclusion, exposure to manganese was associated with suboptimal neurodevelopment in a number of studies. The present study pooled data from two epidemiological studies to estimate benchmark concentrations of manganese in water associated with different levels cognitive deficits. The results can guide decision-makers to set a maximum acceptable concentration for manganese in drinking water to protect children, a group of the population vulnerable to manganese neurotoxicity.

3.5 REFERENCES

- Agusa, T., Kunito, T., Fujihara, J., Kubota, R., Minh, T. B., Kim Trang, P. T., Iwata, H., Subramanian, A., Viet, P. H., & Tanabe, S. (2006). Contamination by arsenic and other trace elements in tube-well water and its risk assessment to humans in Hanoi, Vietnam. *Environmental Pollution*, 139(1), 95-106.
- Barbeau, B., Carriere, A., & Bouchard, M. F. (2011). Spatial and temporal variations of manganese concentrations in drinking water. *Journal of Environmental Science and Health Part A Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 46(6), 608-616.
- Batty, G. D., Deary, I. J., Benzeval, M., & Der, G. (2010). Does IQ predict cardiovascular disease mortality as strongly as established risk factors? Comparison of effect estimates using the West of Scotland Twenty-07 cohort study. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation*, 17(1), 24-27.
- Bauer, J. A., Claus Henn, B., Austin, C., Zoni, S., Fedrighi, C., Cagna, G., Placidi, D., White, R. F., Yang, Q., Coull, B. A., Smith, D., Lucchini, R. G., Wright, R. O., & Arora, M. (2017). Manganese in teeth and neurobehavior: Sex-specific windows of susceptibility. *Environment International*, 108, 299-308.
- Bjorklund, G., Chartrand, M. S., & Aaseth, J. (2017). Manganese exposure and neurotoxic effects in children. *Environmental Research*, 155, 380-384.
- Bouchard, M. F., Sauve, S., Barbeau, B., Legrand, M., Brodeur, M. E., Bouffard, T., Limoges, E., Bellinger, D. C., & Mergler, D. (2011). Intellectual impairment in school-age children exposed to manganese from drinking water. *Environmental Health Perspectives*, 119(1), 138-143.
- Bouchard, M. F., Surette, C., Cormier, P., & Foucher, D. (2018). Low level exposure to manganese from drinking water and cognition in school-age children. *Neurotoxicology*, 64, 110-117.
- Budtz-Jorgensen, E., Bellinger, D., Lanphear, B., Grandjean, P., & International Pooled Lead Study, I. (2013). An international pooled analysis for obtaining a benchmark dose for environmental lead exposure in children. *Risk Analysis*, 33(3), 450-461.
- Carriere, A., Brouillon, M., Sauve, S., Bouchard, M. F., & Barbeau, B. (2011). Performance of point-of-use devices to remove manganese from drinking water. *Journal of Environmental Science and Health Part A Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 46(6), 601-607.

- Chiu, Y. M., Claus Henn, B., Hsu, H. L., Pendo, M. P., Coull, B. A., Austin, C., Cagna, G., Fedrighi, C., Placidi, D., Smith, D. R., Wright, R. O., Lucchini, R. G., & Arora, M. (2017). Sex differences in sensitivity to prenatal and early childhood manganese exposure on neuromotor function in adolescents. *Environmental Research*, *159*, 458-465.
- Cooper, M., Greene-Finestone, L., Lowell, H., Levesque, J., & Robinson, S. (2012). Iron sufficiency of Canadians. *Health Reports*, *23*(4), 41-48.
- European Food Safety Authority (EFSA) Scientific Committee, Hardy, A., Benford, D., Halldorsson, T., Jeger, M. J., Knutsen, K. H., More, S., Mortensen, A., Naegeli, H., Noteborn, H., Ockleford, C., Ricci, A., Rychen, G., Silano, V., Solecki, R., Turck, D., Aerts, M., Bodin, L., Davis, A., Edler, L., Gundert-Remy, U., Sand, S., Slob, W., Bottex, B., Abrahantes, J. C., Marques, D. C., Kass, G., & Schlatter, J. R. (2017). Update: Use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal*, *15*(1).
- Finley, J. W., Johnson, P. E., & Johnson, L. K. (1994). Sex affects manganese absorption and retention by humans from a diet adequate in manganese. *American Journal of Clinical Nutrition*, *60*(6), 949-955.
- Frisbie, S. H., Mitchell, E. J., Dustin, H., Maynard, D. M., & Sarkar, B. (2012). World Health Organization discontinues its drinking-water guideline for manganese. *Environmental Health Perspectives*, *120*(6), 775-778.
- Grosse, S. D., Matte, T. D., Schwartz, J., & Jackson, R. J. (2002). Economic gains resulting from the reduction in children's exposure to lead in the United States. *Environmental Health Perspectives*, *110*(6), 563-569.
- He, P., Liu, D., Zhang, G. Q., & Sun, M. (1994). Effects of high-level Manganese sewage irrigation on children's neurobehavior. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, *28*(4), 216-218.
- Health Canada. (2016). Manganese in Drinking Water. Document for Public Consultation. Ottawa, Canada.
- Hernandez-Bonilla, D., Escamilla-Nunez, C., Mergler, D., Rodriguez-Dozal, S., Cortez-Lugo, M., Montes, S., Tristan-Lopez, L. A., Catalan-Vazquez, M., Schilman, A., & Riojas-Rodriguez, H. (2016). Effects of manganese exposure on visuoperception and visual memory in schoolchildren. *Neurotoxicology*, *57*, 230-240.
- Hernández-Bonilla, D., Schilman, A., Montes, S., Rodríguez-Agudelo, Y., Rodríguez-Dozal, S., Solís-Vivanco, R., Ríos, C., & Riojas-Rodríguez, H. (2011). Environmental exposure to manganese and motor function of children in Mexico. *Neurotoxicology*, *32*(5), 615-621.

- Howe, Paul D, Malcolm, H. M, Dobson, Stuart, World Health Organization & International Programme on Chemical Safety. (2004). Manganese and its compounds: environmental aspects. Geneva: World Health Organization.
- Hozyasz, K. K., & Ruszczyńska, A. (2004). High manganese levels in milk-based infant formulas. *Neurotoxicology*, 25(4), 733.
- Jacobson, J. L., Janisse, J., Banerjee, M., Jester, J., Jacobson, S. W., & Ager, J. W. (2002). A benchmark dose analysis of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls. *Environmental Health Perspectives*, 110(4), 393-398.
- Kawamura, R., Ikuta, S., Fukuzumi, S., Yamada, R., & Tsubaki, S. (1941). Intoxication by manganese in well water. *Kitasato Archives of Experimental Medicine*, 18, 145-171.
- Khan, K., Factor-Litvak, P., Wasserman, G. A., Liu, X., Ahmed, E., Parvez, F., Slavkovich, V., Levy, D., Mey, J., van Geen, A., & Graziano, J. H. (2011). Manganese exposure from drinking water and children's classroom behavior in Bangladesh. *Environmental Health Perspectives*, 119(10), 1501-1506.
- Khan, K., Wasserman, G. A., Liu, X., Ahmed, E., Parvez, F., Slavkovich, V., Levy, D., Mey, J., van Geen, A., Graziano, J. H., & Factor-Litvak, P. (2012). Manganese exposure from drinking water and children's academic achievement. *Neurotoxicology*, 33(1), 91-97.
- Kim, Y., & Lee, B. K. (2011). Iron deficiency increases blood manganese level in the Korean general population according to KNHANES 2008. *Neurotoxicology*, 32(2), 247-254.
- Ljung, K., & Vahter, M. (2007). Time to re-evaluate the guideline value for manganese in drinking water? *Environmental Health Perspectives*, 115(11), 1533-1538.
- Menezes-Filho, J. A., de Carvalho-Vivas, C. F., Viana, G. F., Ferreira, J. R., Nunes, L. S., Mergler, D., & Abreu, N. (2014). Elevated manganese exposure and school-aged children's behavior: a gender-stratified analysis. *Neurotoxicology*, 45, 293-300.
- National Research Council (U.S.). Committee on the Toxicological Effects of Methylmercury. (2000). Toxicological effects of methylmercury. Washington, DC: National Academy Press.
- National Water-Quality Assessment (NAWQA) Program. (2018). Quality of Water from Public-Supply Wells in the United States.
- O'Neal, S. L., & Zheng, W. (2015). Manganese Toxicity Upon Overexposure: a Decade in Review. *Current Environmental Health Reports*, 2(3), 315-328.

- Oulhote, Y., Mergler, D., Barbeau, B., Bellinger, D. C., Bouffard, T., Brodeur, M. E., Saint-Amour, D., Legrand, M., Sauve, S., & Bouchard, M. F. (2014a). Neurobehavioral function in school-age children exposed to manganese in drinking water. *Environmental Health Perspectives*, *122*(12), 1343-1350.
- Oulhote, Y., Mergler, D., & Bouchard, M. F. (2014b). Sex- and age-differences in blood manganese levels in the U.S. general population: national health and nutrition examination survey 2011-2012. *Environmental Health*, *13*, 87.
- Rahman, S. M., Kippler, M., Tofail, F., Bolte, S., Hamadani, J. D., & Vahter, M. (2017). Manganese in Drinking Water and Cognitive Abilities and Behavior at 10 Years of Age: A Prospective Cohort Study. *Environmental Health Perspectives*, *125*(5), 057003.
- Raiford, S. E. (2017). *Essentials of WISC-V Integrated Assessment*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Riojas-Rodriguez, H., Solis-Vivanco, R., Schilman, A., Montes, S., Rodriguez, S., Rios, C., & Rodriguez-Agudelo, Y. (2010). Intellectual function in Mexican children living in a mining area and environmentally exposed to manganese. *Environmental Health Perspectives*, *118*(10), 1465-1470.
- Rodier, J. (1955). Manganese poisoning in Moroccan miners. *British Journal of Industrial Medicine*, *12*(1), 21-35.
- Shao, K., & Shapiro, A. J. (2018). A Web-Based System for Bayesian Benchmark Dose Estimation. *Environmental Health Perspectives*, *126*(1), 017002.
- Torres-Agustin, R., Rodriguez-Agudelo, Y., Schilman, A., Solis-Vivanco, R., Montes, S., Riojas-Rodriguez, H., Cortez-Lugo, M., & Rios, C. (2013). Effect of environmental manganese exposure on verbal learning and memory in Mexican children. *Environmental Research*, *121*, 39-44.
- U.S. EPA. (2004). Drinking water health advisory for manganese. In *Report 822R040032004*. Washington, DC.
- U.S. Geological Survey. (2005). National Water-Quality Assessment Program.
- Van den Hoven, T., & Slaats, N. (2006). Lead monitoring. In P. Quevauvillier & K. Thompson (Eds.), *Analytical Methods for Drinking Water, Advances in Sampling and Analysis*. Hoboken, NJ: Wiley.
- Wahlberg, K., Arora, M., Curtin, A., Curtin, P., Wright, R. O., Smith, D. R., Lucchini, R. G., Broberg, K., & Austin, C. (2018). Polymorphisms in manganese transporters show developmental stage and sex specific associations with manganese concentrations in primary teeth. *Neurotoxicology*, *64*, 103-109.

- Wasserman, G. A., Liu, X., Parvez, F., Ahsan, H., Levy, D., Factor-Litvak, P., Kline, J., van Geen, A., Slavkovich, V., Lolocono, N. J., Cheng, Z., Zheng, Y., & Graziano, J. H. (2006). Water manganese exposure and children's intellectual function in Araihaazar, Bangladesh. *Environmental Health Perspectives*, 114(1), 124-129.
- Wasserman, G. A., Liu, X., Parvez, F., Factor-Litvak, P., Ahsan, H., Levy, D., Kline, J., van Geen, A., Mey, J., Slavkovich, V., Siddique, A. B., Islam, T., & Graziano, J. H. (2011). Arsenic and manganese exposure and children's intellectual function. *Neurotoxicology*, 32(4), 450-457.
- Wechsler, D. (1999). Wechsler Abbreviated Scale of Intelligence (WASI). San Antonio, Texas: Harcourt Assessment.
- Wechsler, D. (2003). Wechsler Intelligence Scale for Children. (4th ed). In. San Antonio, TX: Psychological Corporation.
- WHO. (2011). Guidelines for Drinking-Water Quality. Fourth Edition. In. Geneva: WHO.
- Winder, B. S. (2010). Manganese in the air: are children at greater risk than adults? *Journal of Toxicology Environmental Health Part A*, 73(2), 156-158.
- Zoni, S., & Lucchini, R. G. (2013). Manganese exposure: cognitive, motor and behavioral effects on children: a review of recent findings. *Current Opinion in Pediatrics*, 25(2), 255-260.

CHAPITRE IV. DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSIONS

4.1 Rappel des résultats principaux

Dans notre étude, nous avons estimé la concentration de Mn dans l'eau potable associée à une diminution de 1%, 2%, et de 5% de QI Performance chez l'enfant d'âge scolaire. Rappelons d'abord que nos résultats d'analyse de régression entre le QI Performance ajusté et la concentration de Mn dans l'eau ont démontré qu'un niveau plus élevé de Mn dans l'eau a été significativement associé à une diminution de QI Performance chez l'enfant ($\beta = -0.008$; IC95%: -0.14, -0.002). Ces analyses étaient ajustées pour l'éducation maternelle, intelligence maternelle, le tester QI et le revenu familial. Les analyses stratifiées par sexe ont montré une association négative qui était statistiquement significative pour les filles ($\beta = -0.009$; IC95%: -0.016, -0.002), mais pas pour les garçons ($\beta = -0.004$; IC95%: -0.015, 0.007). Ceci est en concordance avec autres études sur le Mn et les effets neurotoxiques qui démontrent les effets différentiels entre les sexes (Bauer *et al.*, 2017b; Oulhote, *et al.*, 2014; Riojas-Rodriguez *et al.*, 2010).

L'analyse concentration repère a démontré qu'une diminution de 1% de QI Performance chez l'enfant est associée à une concentration de Mn dans l'eau de 121 $\mu\text{g/L}$ (LIIC95%, 70 $\mu\text{g/L}$), tandis que celle pour une diminution de 2% et de 5% points est associée à une concentration de 241 $\mu\text{g/L}$ (LIIC95%, 141 $\mu\text{g/L}$) et de 611 $\mu\text{g/L}$ (LIIC95%, 367 $\mu\text{g/L}$). Les analyses stratifiées par sexe ont suggéré un niveau plus élevé de sensibilité aux effets neurotoxiques de Mn chez les filles comparativement aux garçons. La concentration de Mn dans l'eau associée à une diminution de 1% de QI Performance chez les filles était de 73 $\mu\text{g/L}$ (LIIC95%, 8 $\mu\text{g/L}$) comparativement à 169 $\mu\text{g/L}$ (LIIC95%, 68 $\mu\text{g/L}$) chez les garçons pour le même niveau de diminution de QI Performance.

Présentement, il n'y a pas de consensus sur une recommandation en matière de santé pour le Mn dans l'eau potable. L'ancienne recommandation de l'OMS de 400 $\mu\text{g/L}$, a été abandonnée en 2011 (OMS, 2011). Or, cette recommandation était probablement trop élevée puisque cette concentration est proche de celle associée à une réduction de 5% de QI Performance selon nos résultats pour une LIIC95% de 367 $\mu\text{g/L}$. Santé Canada a lancé une consultation en 2016 pour mettre en place une recommandation pour le Mn

dans l'eau visant à protéger la santé; une concentration maximale de 100 µg/L a été suggérée (Santé Canada, 2016). Encore plus récemment, l'INSPQ a proposé une concentration maximale de 60 µg/L à partir des méthodes de Santé Canada et d'autres organisations (Valcke *et al.*, 2018). Ces valeurs sont proches de la concentration associée à une réduction de 1% de QI Performance dans notre analyse. L'Autorité européenne de la sécurité des aliments recommande d'être conservateur dans le choix d'un niveau de réponse (réduction de 1% ou de 2% de QI par exemple) pour protéger la population le mieux possible contre les effets néfastes (Hardy *et al.*, 2017).

4.2 Comparaison avec méthode de Santé Canada

Santé Canada (2016) a utilisé trois études clés réalisées sur les rongeurs pour dériver une concentration maximale acceptable de Mn dans l'eau (Beaudin *et al.*, 2013; Kern et Smith, 2011; Kern *et al.*, 2010). Dans ces études, les rats nouveau-nés ont été divisés selon trois groupes de doses 0, 25, ou 50 mg Mn/kg de poids corporel par jour pour estimer une LOAEL. Contrairement à ces études, notre étude offre l'avantage d'utiliser les données directement chez les participants humains, de prendre en compte la variabilité de toutes les données puisque les participants n'étaient pas divisés en groupe de doses et d'éviter l'utilisation des facteurs d'incertitudes qui sont nécessaires avec l'approche LOAEL (U.S EPA, 2002). Ensuite, les études animales étaient basées sur l'observation d'altération des comportements locomoteurs généraux, un indicateur beaucoup moins raffiné que la mesure du QI, et probablement moins sensible aux effets neurotoxiques du Mn. Il est aussi important de noter que ces études ont exposé les rats aux niveaux plus élevés de Mn que dans notre étude (Kern *et al.*, 2011; Kern *et al.*, 2010).

4.3 Forces de la présente étude

Notre étude est la première à utiliser des données rassemblées des études épidémiologiques pour estimer une concentration repère de Mn dans l'eau potable. À l'aide du logiciel d'analyse BBMD, nous avons estimé la concentration de Mn dans l'eau à partir de la moyenne des modèles (*model averaging*), une approche recommandée par le

comité scientifique de l'Autorité européenne de la sécurité des aliments (AESAs, 2017) pour estimer la dose repère ou la concentration repère. Pour estimer la concentration repère à partir de la moyenne des modèles, sept fonctions concentration-réponse sont modélisées et les modèles qui ont un meilleur ajustement aux données ont une plus grande influence sur l'estimation moyenne de la concentration repère (influence modulée par pondération). Cette approche diffère de l'approche conventionnelle qui dérive une seule estimation de la dose repère (Hasselblad et Jarabek, 1996) en incluant toutes les valeurs plausibles de la dose repère basée sur l'intégration de la distribution des autres fonctions. En combinant les distributions de ces différentes fonctions, le niveau d'incertitude autour de l'estimation de la dose repère est diminué (Wheeler et Bailer, 2009).

4.3.1 Considération des facteurs de confusion

Les facteurs sont importants à considérer dans les données épidémiologiques pour évaluer la relation concentration-réponse. En défaut de tenir compte ces facteurs, la dose repère risque d'être sous-estimée ou surestimée (AESAs, 2009). Dans l'analyse poolée, nous avons utilisé une procédure spécifique pour bien identifier les facteurs de confusion et avons retenu les suivants : éducation maternelle, intelligence maternelle, le psychométricien et le revenu familial. Or, en plus de ceux-ci, beaucoup d'autres variables ont également été vérifiées pour leur rôle éventuel dans la question étudiée, mais ils n'ont pas été retenus dans l'analyse, car ils n'influençaient pas la relation entre le Mn dans l'eau et le QI. C'était le cas pour score HOME, l'âge de l'enfant, le poids à la naissance, la concentration de fer dans l'eau, la langue parlée la maison, la zone d'habitation (rurale, urbaine), et l'utilisation des pesticides à proximité de la résidence.

4.3.2 Méthodologie approfondie des études originales

Quelques autres forces au niveau de la méthodologie des études originales sont à noter, dont un questionnaire de fréquence d'alimentation dans l'étude Québec qui a permis de constater que la concentration de Mn provenant de la diète n'était pas associée à la performance cognitive (Bouchard *et al.*, 2011). De plus, la mesure des autres

métaux neurotoxiques, comme le plomb et l'arsenic, dans les deux études, nous a permis de tenir compte de l'influence éventuelle de ces derniers; en l'occurrence, ils n'étaient pas associés au QI et n'influençaient pas l'association entre l'exposition au Mn et le QI. De plus, les concentrations des autres métaux étaient très faibles et très peu d'échantillons d'eau dépassaient les recommandations basées sur la santé de Santé Canada (tableau 5 dans Annexe B).

Malgré que les niveaux de Mn dans l'eau souterraine demeurent relativement stables au cours des saisons (Barbeau *et al.*, 2011), les deux études ont également analysé l'eau pour la variabilité temporelle et les analyses ont validé le peu de variabilité temporelle pour la concentration de Mn dans l'eau. Finalement, la durée de résidence était relativement longue chez les familles puisque 80% des enfants habitaient dans la même résidence depuis plus de 3 ans, suggérant que ces enfants ont été exposés à la même concentration de Mn pendant cette période.

4.4 Limites de la présente étude

4.4.1 Données transversales

La présente étude présente quelques limites reliées aux deux études originales de l'analyse poolée. Dans l'étude au Québec et Nouveau-Brunswick l'exposition au Mn de l'eau potable et les déficits cognitifs chez l'enfant ont été examinés simultanément (Bouchard *et al.*, 2011; Bouchard *et al.*, 2018). Donc il n'était pas clair si les déficits cognitifs étaient le résultat d'une exposition cumulée et/ou d'une exposition durant une période de développement spécifique chez l'enfant. Ceci est important considérant la faible capacité biliaire chez les nourrissons qui ont un niveau d'absorption plus élevée de Mn comparativement aux adultes (Aschner *et al.*, 2007). De plus, les nourrissons peuvent consommer les formules pour bébé à base de soja qui peuvent contenir des niveaux élevés de Mn, surtout si ce premier est mélangé avec l'eau contaminée par le Mn (Hozyasz et Ruszczyńska, 2004).

Étant donné que deux évaluations cognitives distinctes ont été menées dans chacune des deux études, le WASI et le WISC-IV, il fallait trouver un moyen d'harmoniser les scores de QI Performance des deux échantillons. Donc, les scores bruts du WASI ont

été convertis en cotes standardisées du WISC-IV lors de la première étape de la standardisation. Cependant, cette étape aurait pu faire perdre de la précision de QI Performance de l'enfant puisqu'une seule cote standardisée du WISC-IV est égale à trois scores bruts différents du WASI (Wechsler, 1999). Par exemple, un enfant avec un score standardisé du WISC-IV de 4 peut avoir un score brut du WASI de 29 à 31. Cependant en comparant le QI Performance d'origine de chaque étude à celui standardisé dans la présente étude, nous avons observés qu'ils été hautement corrélés, $r=0,99$ pour l'étude au Québec et $r=1$ pour l'étude au Nouveau-Brunswick.

4.4.2 Faible taille d'effectif pour analyse stratifiée

La limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% de la dose ou de la concentration repère est une estimation souvent privilégiée à la concentration repère aux fins de règlementation puisqu'elle offre une marge de sécurité pour assurer la protection des individus les plus sensibles parmi la population étudiée (AESAs, 2017). La limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% de la concentration repère est plus informative que l'approche de dose maximale sans effet (NOAEL) ou de LOAEL puisqu'elle fournit un niveau d'incertitude autour de la dose repère (AESAs, 2017). Cependant, ce premier est sensible à la taille d'échantillon puisqu'une faible taille d'effectif entraîne un élargissement de l'intervalle de confiance, et donc forcément une diminution de la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95% de la dose repère (Hasselblad et Jarabek, 1996). Donc, nos résultats basés sur l'analyse stratifiée pour le sexe donnent des LIIC95% très basses et difficile à mettre en œuvre pour une recommandation éventuelle (LIIC95% de 8 µg/L pour les filles, pour diminution 1% de QI). La stratification par étude diminuerait davantage encore la taille d'effectif de la LIIC95%, qui est très dépendante de la taille de l'échantillon. Ainsi nous n'avons pas conduit d'analyse stratifiée par étude puisque notre objectif était justement d'estimer une concentration de Mn en regroupant les données de deux études.

4.5 Traitement du Mn dans l'eau

Les problèmes esthétiques liés au Mn sont souvent issus de l'accumulation après le temps du Mn dans le réseau de distribution et non pas d'une source ponctuelle de l'eau potable (Santé Canada, 2016). Au niveau résidentiel, il existe plusieurs méthodes efficaces pour diminuer les concentrations de Mn bien au-dessous de nos estimations de 70 µg/L qui sont associées à une diminution de 1% de QI (Santé Canada, 2016). En situation de concentration élevée de Mn dans l'eau (>140 µg/L), donc 19% des enfants de notre cohorte, le traitement par osmose inverse est le traitement résidentiel le plus efficace qui peut abaisser la concentration de Mn à moins de 1,0 µg/L (Brodeur et Barbeau, 2015, Carriere *et al.*, 2011). Les filtres à charbon actif ont également démontré un haut niveau d'efficacité avec une diminution de 60% de Mn dissout (Carriere *et al.*, 2011).

4.6 Considérations futures pour les études sur le Mn

Certains facteurs semblent rendre certains sous-groupes de la population plus vulnérable aux concentrations élevées de Mn. L'influence du phénotype par exemple un facteur qui peut être considéré dans les futures études sur les risques associés à l'exposition au Mn. Par exemple, une étude chez 332 femmes au moment de l'accouchement au Mexique a observé que la présence de certaines variantes génétiques liés au métabolisme du fer étaient associées à un niveau de Mn inférieur dans le sang de 12% (Claus Henn *et al.*, 2011). Cependant, cette variante génétique est pratiquement exclusive au Mexique. Une autre récente étude chez 195 enfants a démontré que certains polymorphismes sont associés à une concentration supérieure de Mn dans la dentine, un indicateur des niveaux de Mn circulant dans le corps pendant la période périnatale (Wahlberg *et al.*, 2018). (Wahlberg *et al.*, 2018). Le bagage génétique peut varier grandement d'une population à l'autre selon les origines ethniques et ceci est d'autant plus important au Canada où on prévoit qu'une personne sur deux sera un nouvel arrivant ou un enfant de ce dernier en 2036 (Statistique Canada, 2017).

Le statut en fer peut également être un facteur à considérer dans les études sur l'exposition au Mn et la neurotoxicité. Un faible statut en fer a été démontré d'augmenter

la concentration sanguine de Mn dans diverses populations, notamment chez les femmes (Finley, 1999; Kim et Lee, 2011; Oulhote *et al.*, 2014). Cependant, seulement 3% des Canadiennes sont anémiques selon les données de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé (excluant les habitants des réserves des Premières nations et les résidents institutionnels) (Cooper *et al.*, 2012).

De nombreuses études longitudinales chez les personnes exposées en milieu de travail ont observé des effets neurotoxiques dus à l'inhalation de Mn, effets qui peuvent persister plusieurs années après l'arrêt d'exposition (Bouchard *et al.*, 2007; Lucchini *et al.*, 1999; Yoon *et al.*, 2015). La persistance ou la réversibilité des effets neurotoxiques pouvant résulter de l'exposition au Mn de l'eau potable chez les enfants n'a pas encore été bien documentée. Une récente étude longitudinale qui a fait un suivi sur 287 des enfants de la cohorte du Québec après environ quatre ans a montré une diminution de QI Performance de presque 3 points pour 23 de ces enfants pour qui la concentration de Mn dans l'eau avait augmenté (Dion *et al.*, 2018). De plus, le QI Performance restait relativement stable chez les 31 enfants pour qui la concentration de Mn dans l'eau avait diminué. Cependant, la faible taille d'effectif était une limite importante pour bien examiner l'effet des changements d'exposition au Mn dans l'eau potable.

4.7 Conclusions

De plus en plus d'études démontrent qu'une exposition trop élevée au Mn dans l'eau potable peut entraîner des effets neurotoxiques chez les enfants, tels que des déficits cognitifs, des troubles comportementaux et moteurs. Il y a un grand besoin pour établir une norme pour le Mn dans l'eau puisqu'il n'y a pas présentement de consensus pour une concentration maximale acceptable de Mn dans l'eau potable.

Notre étude poolée est la première à utiliser les données épidémiologiques pour estimer une concentration acceptable de Mn dans l'eau à partir du logiciel BBMD. Nos résultats ont démontré qu'une recommandation éventuelle pour le Mn dans l'eau potable devrait être plus basse que l'ancienne recommandation de l'OMS, mais très proche de la concentration maximale acceptable proposée par Santé Canada. Les analyses stratifiées par sexe ont montré une plus grande sensibilité chez les filles, avec une concentration

repère moins élevée que chez les garçons, cependant la faible taille d'effectif pour l'analyse stratifiée ne milite pas pour son utilisation pour fin de recommandation.

Nos résultats d'analyse concentration repère peuvent servir aux décideurs partout au monde pour établir une concentration maximale acceptable de Mn afin de protéger les enfants, une population particulièrement touchée par les effets neurotoxiques de ce métal dans l'eau.

4.8 RÉFÉRENCES

- AESA, Autorité européenne de sécurité des aliments (2009). Guidance of the Scientific Committee on Use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal*, 7(6), 1150.
- Achenbach, I., Ivanova, M. Y., Rescorla, L. A., Turner, L. V., Althoff, R. R. (2016) Internalizing/Externalizing Problems: Review and Recommendations for Clinical and Research Applications. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 55(8): 647-656.
- Andersen, M. E., Gearhart, J. M. et Clewell, H. J., 3rd. (1999). Pharmacokinetic data needs to support risk assessments for inhaled and ingested manganese. *Neurotoxicology*, 20(2-3), 161-171.
- Aschner, J. L. et Aschner, M. (2005). Nutritional aspects of manganese homeostasis. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5), 353-362.
- Aschner, M., Guilarte, T. R., Schneider, J. S. et Zheng, W. (2007). Manganese: recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 221(2), 131-147.
- Baldwin, M., Mergler, D., Larribe, F., Belanger, S., Tardif, R., Bilodeau, L. et Hudnell, K. (1999). Bioindicator and exposure data for a population based study of manganese. *Neurotoxicology*, 20(2-3), 343-353.
- Barbeau, B., Carriere, A. et Bouchard, M. F. (2011). Spatial and temporal variations of manganese concentrations in drinking water. *Journal of Environmental Science and Health Part A Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 46(6), 608-616.
- Barceloux, D. G. (1999). Manganese. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 37(2), 293-307.
- Barter, J. W., Castro, S., Sukharnikova, T., Rossi, M. A. et Yin, H. H. (2014). The role of the substantia nigra in posture control. *European Journal of Neuroscience*, 39(9), 1465-1473.
- Bauer, J. A., Claus Henn, B., Austin, C., Zoni, S., Fedrighi, C., Cagna, G., Placidi, D., White, R. F., Yang, Q., Coull, B. A., Smith, D., Lucchini, R. G., Wright, R. O. et Arora, M. (2017). Manganese in teeth and neurobehavior: Sex-specific windows of susceptibility. *Environment International*, 108, 299-308.

- Beaudin, S. A., Nisam, S. et Smith, D. R. (2013). Early life versus lifelong oral manganese exposure differently impairs skilled forelimb performance in adult rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 38, 36-45.
- Blanc, P. D. (2018). The early history of manganese and the recognition of its neurotoxicity, 1837-1936. *Neurotoxicology* 64, 5-11.
- Bouchard, M., Mergler, D. et Baldwin, M. (2005). Manganese exposure and age: neurobehavioral performance among alloy production workers. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(3), 687-694.
- Bouchard, M., Mergler, D., Baldwin, M., Panisset, M. et Roels, H. A. (2007). Neuropsychiatric symptoms and past manganese exposure in a ferro-alloy plant. *Neurotoxicology*, 28(2), 290-297.
- Bouchard, M. F., Sauve, S., Barbeau, B., Legrand, M., Brodeur, M. E., Bouffard, T., Limoges, E., Bellinger, D. C. et Mergler, D. (2011). Intellectual impairment in school-age children exposed to manganese from drinking water. *Environmental Health Perspectives*, 119(1), 138-143.
- Bouchard, M. F., Surette, C., Cormier, P. et Foucher, D. (2018). Low level exposure to manganese from drinking water and cognition in school-age children. *Neurotoxicology*, 64, 110-117.
- Brna, P., Gordon, K., Dooley, J. M. et Price, V. (2011). Manganese Toxicity in a Child With Iron Deficiency and Polycythemia. *Journal of Child Neurology*, 26(7), 891-894.
- Butterworth, R. F. (1995). Pathophysiology of alcoholic brain damage: synergistic effects of ethanol, thiamine deficiency and alcoholic liver disease. *Metabolic Brain Disease*, 10(1), 1-8.
- Calne, D. B., Chu, N. S., Huang, C. C., Lu, C. S. et Olanow, W. (1994). Manganism and idiopathic parkinsonism: similarities and differences. *Neurology*, 44(9), 1583-1586.
- Carriere, A., Brouillon, M., Sauve, S., Bouchard, M. F. et Barbeau, B. (2011). Performance of point-of-use devices to remove manganese from drinking water. *Journal of Environmental Science and Health Part A Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 46(6), 601-607.
- Chow, N. (2012). Manganese ore for lithium batteries. *Metal Powder Report*, 67(6), 34-36.

- Claus Henn, B., Kim, J., Wessling-Resnick, M., Téllez-Rojo, M. M., Jayawardene, I., Ettinger, A. S., Hernández-Avila, M., Schwartz, J., Christiani, D. C., Hu, H. et Wright, R. O. (2011). Associations of iron metabolism genes with blood manganese levels: a population-based study with validation data from animal models. *Environmental Health*, 10, 97-97.
- Cooper, M., Greene-Finestone, L., Lowell, H., Levesque, J. et Robinson, S. (2012). Iron sufficiency of Canadians. *Health Reports*, 23(4), 41-48.
- Dion, L.-A., Saint-Amour, D., Sauvé, S., Barbeau, B., Mergler, D. et Bouchard, M. F. (2018). Changes in water manganese levels and longitudinal assessment of intellectual function in children exposed through drinking water. *Neurotoxicology*, 64, 118-125.
- Environnement et changement climatique Canada (2018). L'eau et l'environnement. Disponible à <https://www.canada.ca/fr/environnement-changement-climatique/services/eau-aperçu.html>
- Finkelstein, M. M. et M. Jerrett (2007). A study of the relationships between Parkinson's disease and markers of traffic-derived and environmental manganese air pollution in two Canadian cities. *Environmental Research* 104(3): 420-432.
- Finley, J. W. (1999). Manganese absorption and retention by young women is associated with serum ferritin concentration. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70(1), 37-43.
- Fitsanakis, V. A., Thompson, K. N., Deery, S. E., Milatovic, D., Shihabi, Z. K., Erikson, K. M., Brown, R. W. et Aschner, M. (2009). A chronic iron-deficient/high-manganese diet in rodents results in increased brain oxidative stress and behavioral deficits in the morris water maze. *Neurotoxicity Research*, 15(2), 167-178.
- Frisbie, S. H., Mitchell, E. J., Dustin, H., Maynard, D. M. et Sarkar, B. (2012). World Health Organization Discontinues Its Drinking-Water Guideline for Manganese. *Environmental Health Perspectives*, 120(6), 775-778.
- Hardy, A., Benford, D., Halldorsson, T., Jeger, M. J., Knutsen, K. H., More, S., Mortensen, A., Naegeli, H., Noteborn, H., Ockleford, C., Ricci, A., Rychen, G., Silano, V., Solecki, R., Turck, D., Aerts, M., Bodin, L., Davis, A., Edler, L., Gundert-Remy, U., Sand, S., Slob, W., Bottex, B., Abrahantes, J. C., Marques, D. C., Kass, G. et Schlatter, J. R. (2017). Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA Journal*, 15(1).
- Hasselblad, V et Jarabek, F, A. (1996). Dose-Response Analysis of Toxic Chemicals. Dans Berry, D. A. et Stangl, D *Bayesian Biostatistics* (p. 235-242). New York, New York: Taylor & Francis Group.

- Hauser, R. A., Zesiewicz, T. A., Rosemurgy, A. S., Martinez, C. et Olanow, C. W. (1994). Manganese intoxication and chronic liver failure. *Annals of Neurology*, 36(6), 871-875.
- Haynes, E. N., Sucharew, H., Kuhnell, P., Alden, J., Barnas, M., Wright, R. O., Parsons, P. J., Aldous, K. M., Praamsma, M. L., Beidler, C. et Dietrich, K. N. (2015). Manganese Exposure and Neurocognitive Outcomes in Rural School-Age Children: The Communities Actively Researching Exposure Study (Ohio, USA). *Environmental Health Perspectives*, 123(10), 1066-1071.
- He, P., Liu, D. H. et Zhang, G. Q. (1994). Effects of high-level-manganese sewage irrigation on children's neurobehavior. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi [Chinese journal of preventive medicine]*, 28(4), 216-218.
- Hernández-Bonilla, D., Escamilla-Núñez, C., Mergler, D., Rodríguez-Dozal, S., Cortez-Lugo, M., Montes, S., Tristán-López, L. A., Catalán-Vázquez, M., Schilman, A. et Riojas-Rodriguez, H. (2016). Effects of manganese exposure on visuoperception and visual memory in schoolchildren. *Neurotoxicology*, 57, 230-240.
- Hernández-Bonilla, D., Schilman, A., Montes, S., Rodríguez-Agudelo, Y., Rodríguez-Dozal, S., Solís-Vivanco, R., Ríos, C. et Riojas-Rodríguez, H. (2011). Environmental exposure to manganese and motor function of children in Mexico. *Neurotoxicology*, 32(5), 615-621.
- Howe, Paul D, Malcolm, H. M, Dobson, Stuart, World Health Organization et International Programme on Chemical Safety. (2004). *Manganese and Its Compounds: Environmental Aspects*. World Health Organization.
- Hozyasz, K. K. et Ruszczynska, A. (2004). High manganese levels in milk-based infant formulas. *Neurotoxicology*, 25(4), 733.
- Johnson, P. E., Lykken, G. I. et Korynta, E. D. (1991). Absorption and biological half-life in humans of intrinsic and extrinsic ⁵⁴Mn tracers from foods of plant origin. *Journal of Nutrition*, 121(5), 711-717.
- Karim, Z. (2011). Risk assessment of dissolved trace metals in drinking water of Karachi, Pakistan. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(6), 676-678.
- Kern, C. et Smith, D. R. (2011). Pre-weaning Mn exposure leads to prolonged astrocyte activation and lasting effects on the dopaminergic system in adult male rats. *Synapse*, 65(6), 532-544.
- Kern, C., Stanwood, G. et Smith, D. R. (2010). Pre-weaning manganese exposure causes hyperactivity, disinhibition, and spatial learning and memory deficits associated with altered dopamine receptor and transporter levels. *Synapse*, 64(5), 363-378.

- Khan, K., Factor-Litvak, P., Wasserman, G. A., Liu, X., Ahmed, E., Parvez, F., Slavkovich, V., Levy, D., Mey, J., van Geen, A. et Graziano, J. H. (2011). Manganese exposure from drinking water and children's classroom behavior in Bangladesh. *Environmental Health Perspectives*, 119(10), 1501-1506.
- Khan, K., Wasserman, G. A., Liu, X., Ahmed, E., Parvez, F., Slavkovich, V., Levy, D., Mey, J., van Geen, A. et Graziano, J. H. et Factor-Litvak, P. (2012). Manganese exposure from drinking water and children's academic achievement. *Neurotoxicology*, 33(1), 91-97.
- Kim, Y. et Lee, B.-K. (2011). Iron deficiency increases blood manganese level in the Korean general population according to KNHANES 2008. *Neurotoxicology*, 32(2), 247-254.
- Kondakis, X. G., Makris, N., Leotsinidis, M., Prinou, M. et Papapetropoulos, T. (1989). Possible health effects of high manganese concentration in drinking water. *Archives of Environmental & Occupational Health*, 44(3), 175-178.
- Krishnan, K. et R. Carrier (2013). The use of exposure source allocation factor in the risk assessment of drinking-water contaminants. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*, 16(1): 39-51.
- Landrigan, P. J., Kimmel, C. A., Correa, A. et Eskenazi, B. (2004). Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 112(2), 257-265.
- Lima, M. M. S., Andersen, M. L., Reksidler, A. B., Vital, M. A. B. F. et Tufik, S. (2007). The Role of the Substantia Nigra Pars Compacta in Regulating Sleep Patterns in Rats. *PLOS ONE*, 2(6), e513.
- Ljung, K. S., Kippler, M. J., Goessler, W., Grandér, G. M., Nermell, B. M. et Vahter, M. E. (2009). Maternal and Early Life Exposure to Manganese in Rural Bangladesh. *Environmental Science & Technology*, 43(7), 2595-2601.
- Lönnerdal, B. (1994). Nutritional aspects of soy formula. *Acta Pædiatrica*, 83, 105-108.
- Lucchini, R., Apostoli, P., Perrone, C., Placidi, D., Albin, E., Migliorati, P., Mergler, D., Sassine, M. P., Palmi, S. et Alessio, L. (1999). Long-term exposure to "low levels" of manganese oxides and neurofunctional changes in ferroalloy workers. *Neurotoxicology*, 20(2-3), 287-297.
- Mena, I., Horiuchi, K., Burke, K. et Cotzias, G. C. (1969). Chronic manganese poisoning. Individual susceptibility and absorption of iron. *Neurology*, 19(10), 1000-1006.

- Menezes-Filho, J. A., de Carvalho-Vivas, C. F., Viana, G. F. S., Ferreira, J. R. D., Nunes, L. S., Mergler, D. et Abreu, N. (2014). Elevated manganese exposure and school-aged children's behavior: A gender-stratified analysis. *Neurotoxicology*, 45, 293-300.
- Mergler, D., Baldwin, M., Belanger, S., Larribe, F., Beuter, A., Bowler, R., Panisset, M., Edwards, R., de Geoffroy, A., Sassine, M. P. et Hudnell, K. (1999). Manganese neurotoxicity, a continuum of dysfunction: results from a community based study. *Neurotoxicology*, 20(2-3), 327-342.
- NAWQA, National Water-Quality Assessment Program. (2018). Quality of Water from Public-Supply Wells in the United States.
- Neal, A. P. et Guilarte, T. R. (2013). Mechanisms of lead and manganese neurotoxicity. *Toxicology research*, 2(2), 99-114.
- National Health and Medical Research Council (NHMRC). (2012). Overview of the 2011 Australian drinking water guidelines. Sydney, N.S.W.: Water Directorate.
- OMS. (2011). Guidelines for Drinking-Water Quality, Fourth Edition. Genève. OMS.
- O'Neal, S. L. et Zheng, W. (2015). Manganese Toxicity Upon Overexposure: a Decade in Review. *Current Environmental Health Reports*, 2(3), 315-328.
- Oulhote, Y., Mergler, D. et Bouchard, M. F. (2014). Sex- and age-differences in blood manganese levels in the U.S. general population: national health and nutrition examination survey 2011–2012. *Environmental Health*, 13, 87.
- Pavilonis, B. T., Lioy, P. J., Guazzetti, S., Bostick, B. C., Donna, F., Peli, M., Zimmerman, N. J., Bertrand, P., Lucas, E., Smith, D. R., Georgopoulos, P. G., Mi, Z., Royce, S. G. et Lucchini, R. G. (2015). Manganese concentrations in soil and settled dust in an area with historic ferroalloy production. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, 25(4), 443-450.
- Pentschew, A., Ebner, F. F. et Kovatch, R. M. (1963). Experimental Manganese Encephalopathy in Monkeys: A Preliminary Report. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 22, 488-499.
- Rahman, S. M., Kippler, M., Tofail, F., Bolte, S., Hamadani, J. D., et Vahter, M. (2017). Manganese in Drinking Water and Cognitive Abilities and Behavior at 10 Years of Age: A Prospective Cohort Study. *Environmental Health Perspectives*, 125(5), 057003.
- Rasmussen, P. E., Subramanian, K. S. et Jessiman, B. J. (2001). A multi-element profile of house dust in relation to exterior dust and soils in the city of Ottawa, Canada. *Science of The Total Environment*, 267(1), 125-140.

- Riojas-Rodriguez, H., Solis-Vivanco, R., Schilman, A., Montes, S., Rodriguez, S., Rios, C. et Rodriguez-Agudelo, Y. (2010). Intellectual function in Mexican children living in a mining area and environmentally exposed to manganese. *Environmental Health Perspectives*, 118(10), 1465-1470.
- Riojas-Rodríguez, H., Solís-Vivanco, R., Schilman, A., Montes, S., Rodríguez, S., Ríos, C. et Rodríguez-Agudelo, Y. (2010). Intellectual Function in Mexican Children Living in a Mining Area and Environmentally Exposed to Manganese. *Environmental Health Perspectives*, 118(10), 1465-1470.
- Rohlman, D. S., et Anger, W. (2006). Neurobehavioral Test Batteries for Children. Dans D. C. Bellinger (dir.), *Human Developmental Neurotoxicology* (p. 303-306). New York, New York: Taylor & Francis Group.
- Rose, C., Butterworth, R. F., Zayed, J., Normandin, L., Todd, K., Michalak, A., Spahr, L., Huet, P. M. et Pomier-Layrargues, G. (1999). Manganese deposition in basal ganglia structures results from both portal-systemic shunting and liver dysfunction. *Gastroenterology*, 117(3), 640-644.
- Roth, J. A., Li, Z., Sridhar, S. et Khoshbouei, H. (2013). The effect of manganese on dopamine toxicity and dopamine transporter (DAT) in control and DAT transfected HEK cells. *Neurotoxicology*, 35, 121-128.
- Santé Canada (2006). Comité fédéral-provincial-territorial sur l'eau potable. Disponible à <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/sante-environnement-milieu-travail/qualite-eau/eau-potable/comite-federal-provincial-territorial-eau-potable-sante-canada.html>
- Santé Canada (2016). Le manganèse dans l'eau potable: Document de consultation publique. Ottawa, Ontario : Comité fédéral-provincial-territorial sur l'eau potable.
- Sahni, V., Léger, Y., Panaro, L., Allen, M., Giffin, S., Fury, D. et Hamm, N. (2007). Case Report: A Metabolic Disorder Presenting as Pediatric Manganism. *Environmental Health Perspectives*, 115(12), 1776-1779.
- Shao, K. et Shapiro, A. J. (2018). A Web-Based System for Bayesian Benchmark Dose Estimation. *Environmental Health Perspectives*, 126(1), 017002.
- Spahr, L., Butterworth, R. F., Fontaine, S., Bui, L., Therrien, G., Milette, P. C., Lebrun, L. H., Zayed, J., Leblanc, A. et Pomier-Layrargues, G. (1996). Increased blood manganese in cirrhotic patients: relationship to pallidal magnetic resonance signal hyperintensity and neurological symptoms. *Hepatology*, 24(5), 1116-1120.

- Statistique Canada. (2010). L'activité humaine et l'environnement. Disponible à <https://www150.statcan.gc.ca/n1/fr/pub/16-201-x/16-201-x2010000-fra.pdf?st=YLIYStHT>
- Statistique Canada. (2017). Immigration et diversité ethnoculturelle : faits saillants du Recensement de 2016. Disponible à <https://www150.statcan.gc.ca/n1/fr/daily-quotidien/171025/dq171025b-fra.pdf?st=CIRbpRef>
- Takeda, A., Sawashita, J. et Okada, S. (1995). Biological half-lives of zinc and manganese in rat brain. *Brain Research*, 695(1), 53-58.
- Torres-Agustín, R., Rodríguez-Agudelo, Y., Schilman, A., Solís-Vivanco, R., Montes, S., Riojas-Rodríguez, H., Cortez-Lugo, M. et Ríos, C. (2013). Effect of environmental manganese exposure on verbal learning and memory in Mexican children. *Environmental Research*, 121, 39-44.
- Valcke, M., Bourgault, M.-H., Haddad, S., Bouchard, M., Gauvin, D. et Levallois, P. (2018). Deriving A Drinking Water Guideline for A Non-Carcinogenic Contaminant: The Case of Manganese. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(6), 1293.
- Vezér, T., Papp, A., Hoyk, Z., Varga, C., Náray, M. et Nagymajtényi, L. (2005). Behavioral and neurotoxicological effects of subchronic manganese exposure in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(3), 797-810.
- Vorhees, C. V., Graham, D. L., Amos-Kroohs, R. M., Braun, A. A., Grace, C. E., Schaefer, T. L., Skelton, M. R., Erikson, K. M., Aschner, M. et Williams, M. T. (2014). Effects of developmental manganese, stress, and the combination of both on monoamines, growth, and corticosterone. *Toxicology Reports*, 1, 1046-1061.
- Wahlberg, K., Arora, M., Curtin, A., Curtin, P., Wright, R. O., Smith, D. R., Lucchini, R. G., Broberg, K. et Austin, C. (2018). Polymorphisms in manganese transporters show developmental stage and sex specific associations with manganese concentrations in primary teeth. *Neurotoxicology*, 64, 103-109.
- Wasserman, G. A., Liu, X., Parvez, F., Ahsan, H., Levy, D., Factor-Litvak, P., Kline, J., van Geen, A., Slavkovich, V., LoIacono, N. J., Cheng, Z., Zheng, Y. et Graziano, J. H. (2006). Water Manganese Exposure and Children's Intellectual Function in Araihasar, Bangladesh. *Environmental Health Perspectives*, 114(1), 124-129.
- Wechsler, D. (2003). Wechsler Intelligence Scale for Children. 4th ed. San Antonio, TX: Psychological Corporation.
- Wheeler, M. W. et Bailer, A. J. (2009). Comparing model averaging with other model selection strategies for benchmark dose estimation. *Environmental and Ecological Statistics*, 16(1), 37-51.

- Williams, M., Todd, G. D., Roney, N., Crawford, J., Coles, C., McClure, P. R., Garey, J. D., Zaccaria, K. et Citra, M. (2012). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) Toxicological Profiles. Atlanta (GA).
- Williams, P.E., Weiss, G., et Rolfhus L,E. (2003). WISC-V Technical Report #2: Psychometric Poperties. The Psychological Corperation.
- Wilson, D. C., Tubman, T. R. J., Halliday, H. L. et McMaster, D. (1992). Plasma manganese levels in the very low birth weight infant are high in early life. *Neonatology*, 61(1), 42-46.
- Woolf, A., Wright, R., Amarasiriwardena, C. et Bellinger, D. (2002). A child with chronic manganese exposure from drinking water. *Environmental Health Perspectives*, 110(6), 613-616.
- Yamada, M., Ohno, S., Okayasu, I., Okeda, R., Hatakeyama, S., Watanabe, H., Ushio, K. et Tsukagoshi, H. (1986). Chronic manganese poisoning: a neuropathological study with determination of manganese distribution in the brain. *Acta Neuropathologica*, 70(3-4), 273-278.
- Yokel, R. A. et Crossgrove, J. S. (2004). Manganese toxicokinetics at the blood-brain barrier. *Research Reports Health Effects Institute*, (119), 7-58; discussion 59-73.
- Yoon, J.-H. et Ahn, Y.-S. (2015). A large, nationwide, longitudinal study of central nervous system diseases among Korean workers exposed to manganese. *Parkinsonism & Related Disorders*, 21(3), 194-198.
- Zayed, J. (2001). Use of MMT in Canadian gasoline: health and environment issues. *American Journal of Industrial Medicine*, 39(4), 426-433.
- Zhang, G., Liu, D. et He, P. (1995). Effects of manganese on learning abilities in school children. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi [Chinese journal of preventive medicine]*, 29(3), 156-158.

Annexe A. Approbations éthiques des études originales

Étude au Québec

UQAM Comité institutionnel d'éthique
de la recherche avec des êtres humains
Université du Québec à Montréal

No. R1-070861

Conformité à l'éthique en matière de recherche impliquant la participation de sujets humains

Le Comité d'éthique de la recherche avec des êtres humains de l'UQAM a examiné le protocole de recherche suivant :

Responsable(s) du projet : Donna Mergler

Département ou École : Sciences biologiques

Titre du projet : «*L'exposition au manganèse dans l'eau potable affecte-t-elle le comportement et les facultés intellectuelles des enfants?*».

Modifications apportées au projet approuvé initialement le 2 avril 2007.

Étudiant (s) réalisant leurs projets de mémoire ou de thèse dans le cadre du présent projet ou programme :

Ce protocole de recherche est jugé conforme aux pratiques habituelles et répond aux normes établies par le «*Cadre normatif pour l'éthique de la recherche avec des êtres humains de l'UQAM*».

Le projet est jugé recevable au plan de l'éthique de la recherche avec des êtres humains.

Le présent certificat est valide jusqu'au 31 mars 2008.

Membres du Comité

Marc Bélanger, Directeur, Département de kinanthropologie
Henriette Bilodeau, Professeure, Département Organisation et ressources humaines
René Binette, Directeur, Écomusée du fier monde, Représentant de la collectivité
Shahira Fawzi, Enseignante retraitée de la CSDM, Représentante de la collectivité
Joseph Josy Lévy, Professeur, Département de sexologie et Institut Santé et Société
Francine M. Mayer, Professeure, Département des sciences biologiques
Christian Saint-Germain, Professeur, Département de philosophie
Jocelyne Thériault, Professeure, Département de sexologie

30 novembre 2007

Date

Case postale 8888, succursale Centre-ville
Montréal (Québec) H3C 3P8 CANADA

Étude au Nouveau-Brunswick

Le 14 octobre 2011

Madame Maryse Bouchard
Unité de recherche Biopsychosociale
Étage A Bloc 5



CHU Sainte-Justine
*Le centre hospitalier
universitaire mère-enfant*

Pour l'amour des enfants

Université 
de Montréal

OBJET: Titre du projet: Fonctionnement cognitif chez des enfants d'âge scolaire exposés au manganèse par l'eau potable

No. de dossier: 3348

Responsables du projet: Maryse Bouchard Ph. D., chercheur principal. Collaborateurs: Benoit Barbeau, Pierre Cormier et Céline Surette

Madame,

Votre projet cité en rubrique a été approuvé par le comité d'éthique de la recherche en date du 29 septembre 2011. Vous trouverez ci-joint la liste des documents approuvés ainsi que vos formulaires d'information et de consentement estampillés dont nous vous prions de vous servir d'une copie pour distribution. Nous vous demandons de nous fournir la lettre de collaboration avec les écoles au fur et à mesure. Notez que pour une collaboration avec un (ou plusieurs) tiers (institutions ou entreprises privées) impliquant des transferts de fonds et/ou données et/ou matériel biologique, une entente (contrat) doit être conclue avec le Bureau des ententes de recherche (BER).

Tous les projets de recherche impliquant des sujets humains doivent être réexaminés annuellement et la durée de l'approbation de votre projet sera effective jusqu'au **29 septembre 2012**. Notez qu'il est de votre responsabilité de soumettre une demande au comité pour que votre projet soit renouvelé avant la date d'expiration mentionnée. Il est également de votre responsabilité d'aviser le comité dans les plus brefs délais de toute modification au projet ainsi que de tout effet secondaire survenu dans le cadre de la présente étude.

Nous vous souhaitons bonne chance dans la réalisation de votre projet et vous prions de recevoir nos meilleures salutations.

Jean-Marie Therrien, Ph.D., éthicien
Président du Comité d'éthique de la recherche

JMT/sa
c.c. : BER

3175, Côte-Sainte-Catherine
Montréal (Québec)
H3T 1C5

Étude au Nouveau-Brunswick



CHU Sainte-Justine

*Le centre hospitalier
universitaire mère-enfant*

Pour l'amour des enfants

Université 
de Montréal

Liste des documents approuvés par le CÉR

Titre du projet:

Fonctionnement cognitif chez des enfants d'âge scolaire exposés au manganèse par l'eau potable

No. de dossier: 3348

Date d'approbation : jeudi 29 septembre 2011

Responsables du projet: BOUCHARD MARYSE Ph. D., chercheur principal.

Collaborateurs: Benoit Barbeau, Pierre Cormier et Céline Surette

Liste:

- Protocole de recherche non daté, approuvé le 29 septembre 2011
- Formulaire d'information et de consentement daté du 12 juillet 2007 (Version française)
- Formulaire d'information et de consentement daté du 12 juillet 2007 (Version anglaise)

3175, Côte-Sainte-Catherine
Montréal (Québec)
H3T 1C5

Annexe B. Analyses des autres métaux

Table S-I. Median concentrations of other metals in tap water ($\mu\text{g/L}$); participants stratified by sex

Metal	Among participants (n=630)			Among excluded participants (n=19)		
	No.	%	Median	No.	Median	Difference
Arsenic	630		0.4	23	0.3	0.1
Boys	302	47.9	0.4	7	0.6	0.2
Girls	328	52.1	0.5	16	0.3	0.2
Copper	630		28.1	23	13.4	14.7
Boys	302	47.9	28.2	7	9.9	18.3
Girls	328	52.1	27.6	16	13.5	14.1
Iron	592		31.8	22	18.4	13.3
Boys	288	48.7	40.4	7	12.5	27.9
Girls	304	51.4	22.7	15	19.6	3.1
Lead	630		0.4	23	0.3	0.2
Boys	302	47.9	0.5	7	0.3	0.2
Girls	328	52.1	0.4	16	0.3	0.1

Table S-II. Water samples of other metals above Health Canada's Guidelines; participants stratified by sex

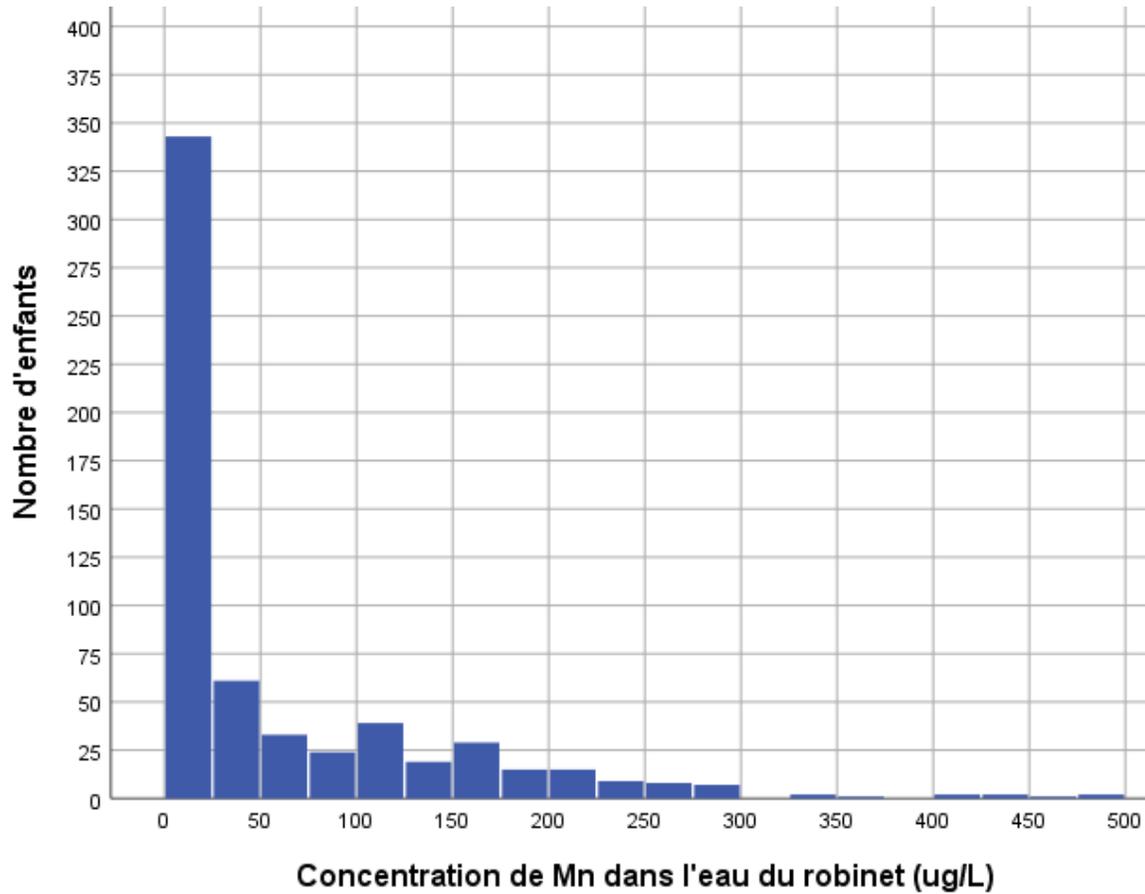
Health-based Guideline	Among total participants (n=630)		
	No.	(%)	Median
Arsenic (>10 µg/L)	19	(3)	13.7
Boys	11	(2)	13.7
Girls	8	(1)	13.3
Copper (>100 µg/L)	138	(22)	204.2
Boys	71	(11)	220.3
Girls	67	(11)	204.2
Iron (>300 µg/L)	41	(7)	400.5
Boys	24	(4)	429.2
Girls	17	(3)	400.5
Lead (>10 µg/L)	2	(0)	12.3
Boys	0	(0)	0.0
Girls	2	(0)	12.3

Tableau S-III. Corrélations entre le manganèse et autres métaux dans l'eau ($\mu\text{g/L}$) :

<u>Métal dans l'eau ($\mu\text{g/L}$)</u>	<u>Corrélation de Pearson (r)</u>
As	0,21
Cu	-0,54
Fe	0,40
Pb	-0,14
Zn	-0,2

Annexe C. Analyses descriptives

Figure S-1 . Distribution des fréquences de la concentration de manganèse dans l'eau du robinet chez les participants (n=630)



Les données > 500 µg/L ne sont pas représentées sur le graphique

Figure S-2 . Comparaison des LIIC95% estimées dans la présente étude (barres bleues avec contour rouge) avec autres recommandations (barres bleues sans contour) en matière de santé pour le manganèse dans l'eau potable.

