

Université de Montréal

Concentrations urinaires en éléments-traces chez des femmes enceintes vivant à proximité d'activités de fracturation hydraulique

Par

Lucie Claustre

Département de santé environnementale et santé au travail,

École de santé publique de l'Université de Montréal

Mémoire présenté à la faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès Sciences (M. Sc.)
en santé environnementale et santé au travail

Option générale

Décembre 2021

© Lucie Claustre, 2021

Université de Montréal

Département de santé environnementale et santé au travail, École de santé publique de
l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé

**Concentrations urinaires en éléments-traces chez des femmes enceintes vivant à proximité
d'activités de fracturation hydraulique**

Présenté par

Lucie Claustre

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Nolwenn Noisel

Président-rapporteur

Marc-André Verner

Directeur de recherche

Annie St-Amand

Membre du jury

Résumé

Située dans le Nord-Est de la Colombie-Britannique, la formation de Montney est une zone d'exploitation gazière par fracturation hydraulique capable de rejeter des contaminants comme les éléments-traces, dont certains peuvent affecter la santé des femmes enceintes et leur enfant. Notre étude visait 1) l'évaluation de l'exposition de femmes enceintes de cette région à plusieurs éléments-traces à partir d'échantillons urinaires répétés, 2) la comparaison des concentrations à celles de populations de référence et 3) l'évaluation de la variabilité intra- et inter-individuelle dans les concentrations urinaires. 85 femmes enceintes participant à notre étude *Exposures in the Peace River Valley* (EXPERIVA) ont fourni 1 échantillon urinaire quotidien pendant 7 jours consécutifs. 20 éléments-traces y ont été analysés. Des statistiques descriptives ont été effectuées et la variabilité a été évaluée à l'aide du coefficient de corrélation intraclass (CCI). Les concentrations urinaires médianes étaient supérieures à celles des populations de référence pour le baryum (2 fois), le cobalt (3 fois) et le strontium (2 fois). Durant la semaine, le 95^e centile de référence était dépassé au moins 1 fois par de nombreuses participantes pour le baryum (58%), le cobalt (73%), le cuivre (29%), le manganèse (28%), le sélénium (38%), le strontium (60%) et le vanadium (100%). Les CCI variaient de 0.288 à 0.722 selon l'élément-trace. Nos résultats laissent supposer que les femmes enceintes de cette région peuvent être particulièrement exposées à certains éléments-traces (baryum, cobalt, cuivre, manganèse, sélénium, strontium et vanadium) et qu'un seul échantillon urinaire peut être insuffisant pour estimer adéquatement l'exposition à certains éléments-traces.

Mots-clés : éléments-traces, exposition, femmes enceintes, biosurveillance, variabilité intra-individuelle, fracturation hydraulique

Abstract

Located in Northeastern British-Columbia, the Montney formation is an important area of gas exploitation by hydraulic fracturing which can release contaminants like trace elements. Gestational exposure to these contaminants may lead to deleterious developmental effects. Our study aimed to assess gestational exposure to trace-elements in women living in this region through repeated urinary measurements, to compare these values to those from reference populations, and to evaluate inter- and intra-individual variability. 85 pregnant women participating in the Exposures in the Peace River Valley (EXPERIVA) study provided daily spot urine samples over 7 consecutive days. Samples were analyzed for 20 trace elements. Descriptive statistics were performed, and variability was evaluated through intraclass correlation coefficient (ICC) calculation for each trace element. When compared with those from North American populations, median urinary levels were higher in our population for barium (2 times), cobalt (3 times) and strontium (2 times). The 95th percentile of reference populations was exceeded at least 1 time by many participants during the week for barium (58%), cobalt (73%), copper (29%), manganese (28%), selenium (38%), strontium (60%) and vanadium (100%). ICCs varied from 0.288 to 0.722 depending on the trace element. Our results suggest that pregnant women living in this region may be more exposed to certain trace elements (barium, cobalt, copper, manganese, selenium, strontium, and vanadium), and that one urine spot sample could be insufficient to adequately estimate exposure to certain trace elements.

Keywords: trace elements, exposure, pregnant women, biomonitoring, intra-individual variability, hydraulic fracturing

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des tableaux.....	vi
Liste des figures.....	vii
Liste des sigles et abréviations.....	viii
Remerciements.....	x
1.Introduction.....	1
1.1. Le gaz naturel.....	1
1.1.1. Généralités.....	1
1.1.2. La formation de Montney et l’exploitation non-conventionnelle en Colombie-Britannique.....	2
1.2. La fracturation hydraulique.....	4
1.2.1 Historique et procédé.....	4
1.2.2. Fluides de fracturation hydraulique et eaux usées.....	6
1.2.4. Impacts sur la qualité des eaux environnantes.....	7
1.2.5. Impacts sur la santé humaine: état des connaissances.....	8
1.3. Les éléments-traces métalliques.....	9
1.4. Surveillance biologique.....	11
1.4.1. Échantillonnage et variabilité.....	11
1.4.2. Données de biosurveillance associées à la fracturation hydraulique.....	12
1.4.3. Surveillance des populations vulnérables.....	13

1.5. Problématiques	14
1.6. Objectifs	14
2. Matériel et méthodes.....	15
2.1. Localisation de l'étude et recrutement.....	15
2.2. Collecte des données et échantillonnage	16
2.3. Analyses chimiques	16
2.4. Analyses statistiques	17
2.5. Comparaison aux valeurs de référence et interprétation des CCI.....	19
3. Article	20
Assessing gestational exposure to trace elements in an area of hydraulic fracturing activity: comparison with reference populations and evaluation of variability.....	22
3.1. Abstract	23
3.2. Introduction.....	24
3.3. Methods	26
3.4. Results	29
3.5. Discussion.....	34
3.6. Conclusion	38
3.7. Acknowledgements.....	38
3.8. References.....	39
3.9. Supplemental material.....	45
4. Discussion générale.....	47
4.1 Données de biosurveillance	47
4.1.1. Retour sur les résultats	47
4.1.2. Sources d'exposition et lien de causalité	48

4.1.3. Apport scientifique de nos résultats	49
4.1.4. Limitations et réflexions	50
4.2. Données de variabilité.....	52
4.2.1. Retour sur les résultats	52
4.2.2. Futures applications	52
4.3. Perspectives	53
5. Conclusion	54
Références.....	55

Liste des tableaux

Introduction

Tableau 1. –	Caractéristiques des principaux éléments-traces métalliques.....	10
Tableau 2. –	Illustration de l'échelle d'interprétation des CCI selon <i>Koo et Li</i> (61).....	19

Article

Table 1. -	Selected characteristics of participants	31
Table 2. -	Urinary trace elements measurements from EXPERIVA	32
Table 3. -	Intraclass correlation coefficient (ICC) estimates, 95% confidence intervals lower and upper bounds and their interpretation following <i>Koo and Li</i> guideline for each trace element	33
Table 4. -	Comparison with published ICC	37
Table S1. -	Urinary trace elements concentrations unadjusted (ng/mL): EXPERIVA study VS reference populations	45
Table S2. -	Limits of detection (LOD) and ranges of detection in EXPERIVA for each trace-element	46

Liste des figures

Figure 1 Forage conventionnel VS forage non-conventionnel	2
Figure 2 Cartographie de la formation de Montney et évolution de l'activité de forage depuis 2005 (source : Office National de l'Energie)	3
Figure 3 Progression de la production de gaz naturel de source non-conventionnelle au profit de celle issue de source conventionnelle entre 2009 et 2019 en Colombie-Britannique (source : BC oil and gas commission)	4
Figure 4 Schéma illustrant l'extraction des gaz conventionnels et non-conventionnels (source : Agence France Presse)	5

Liste des sigles et abréviations

CCI : coefficient de corrélation intraclasse

COV : composés organiques volatiles

ECMS : Enquête Canadienne sur les Mesures de la Santé

EXPERIVA : *Exposures in the Peace River Valley*

HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques

ICP-MS : spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif

IOM : *Institute of Medicine*

LOD : limite de détection

NHANES : *National Health and Nutrition Examination Survey*

QSAR : quantitative structure relationship activity

U.S. EPA : *United States Environmental Protection Agency*

WHO : *World Health Organization*

Remerciements

Je voudrais adresser un GRAND MERCI à :

- Marc-André Verner, mon directeur de maîtrise, professeur et chercheur principal du projet EXPERIVA, qui m'a accordé sa confiance en m'accueillant dans son équipe et en me permettant de participer à son projet de recherche. Merci pour le temps que tu m'as accordé, tes conseils, ton aide et ta bienveillance.
- Elyse Caron-Beaudoin, professeure et co-chercheuse du projet EXPERIVA, pour sa disponibilité, son aide et ses précieux conseils tout au long de mon parcours.
- Delphine Bosson-Rieutort, professeure de biostatistiques et chercheuse au CRESP, pour ses cours de statistiques sur R, sa patience et son aide indispensable.
- Michèle Bouchard, professeure et vice-doyenne à la recherche, pour son accueil, sa bienveillance et la transmission de sa passion pour la recherche.
- mes collègues de laboratoire : Lilit, Antoine, Nadia, Laura L., Laura PSP., Sherri, Emmanuel, Ernest et Hala. Bonne chance à toutes et tous pour la suite !!!

Malgré les conditions dans lesquelles nous avons dû travailler, Covid oblige, tous les professeurs de l'ESPUM ont su s'adapter à ce contexte inédit et ont été bien présents et dynamiques. Merci pour votre travail qui a permis aux étudiants d'évoluer dans les meilleures conditions possibles et pour ce dynamisme essentiel pour garder de la motivation.

Je souhaite également remercier toutes les personnes rencontrées durant ces deux années passées au Québec. Je n'oublierai pas cet accueil chaleureux, cette douceur de vivre à la québécoise et ces magnifiques paysages ! MERCI POUR TOUT !!

1.Introduction

1.1. Le gaz naturel

1.1.1. Généralités

Après le pétrole et le charbon, le gaz naturel est l'hydrocarbure fossile (i.e. non renouvelable) le plus couramment utilisé dans le monde (1). Il est naturellement formé dans les couches sédimentaires au cours du temps *via* la dégradation de la matière organique sous l'action de la pression et de la chaleur (2). Le gaz naturel constitue une famille de plusieurs gaz majoritairement représentée par le méthane et divers gaz naturels liquides tels que le propane et le butane.

En fonction de la nature géologique du gisement d'origine, deux types de gaz naturel sont différenciés : le gaz dit conventionnel et le gaz dit non-conventionnel.

Le gaz conventionnel se forme dans des roches poreuses dont la perméabilité est suffisante pour le laisser circuler jusqu'à une poche réservoir. Son extraction ne nécessite alors qu'un forage vertical simple directement sur cette poche lui permettant de s'évacuer de ce réservoir sous terrain vers la surface du puit par simple différence de pression (2) (**Figure 1**).

Le gaz dit non-conventionnel (gaz de schiste, gaz de réservoir étanche) se forme dans des formations rocheuses peu ou pas perméables au sein desquelles il est pris au piège. L'extraction de ce type de gaz nécessite la création d'une porosité artificielle par fracturation hydraulique qui permet au gaz de se libérer de sa roche mère et ainsi s'évacuer vers la surface (2) (**Figure 1**) (*voir section 1.2. La fracturation hydraulique*).

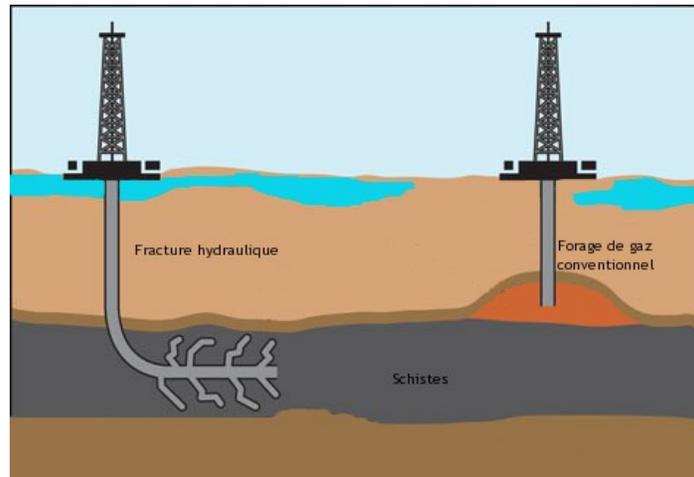


Figure 1 Forage conventionnel VS forage non-conventionnel

Le gaz brut, naturellement extrait sous forme de mélange, est ensuite traité afin de l'isoler des autres potentiels constituants (cas des gaz associés), le débarrasser des impuretés et séparer les différents gaz naturels. Une fois purifiés, les gaz sont soit acheminés par canalisations (« pipelines ») soit liquéfiés afin d'être transportés par voie maritime jusqu'à leur site de distribution.

1.1.2. La formation de Montney et l'exploitation non-conventionnelle en Colombie-Britannique

Le Canada est le 4^{ème} plus gros producteur de gaz naturel dans le monde. 86% de cette production provient de sources non-conventionnelles et le pays abrite la 5^{ème} plus grande ressource de gaz de schiste au monde (3). L'essentiel de la production gazière a lieu dans l'Ouest canadien,

principalement dans les provinces de l'Alberta (71%) et de la Colombie-Britannique (27%) qui reposent sur la formation de Montney (3) (**Figure 2**).

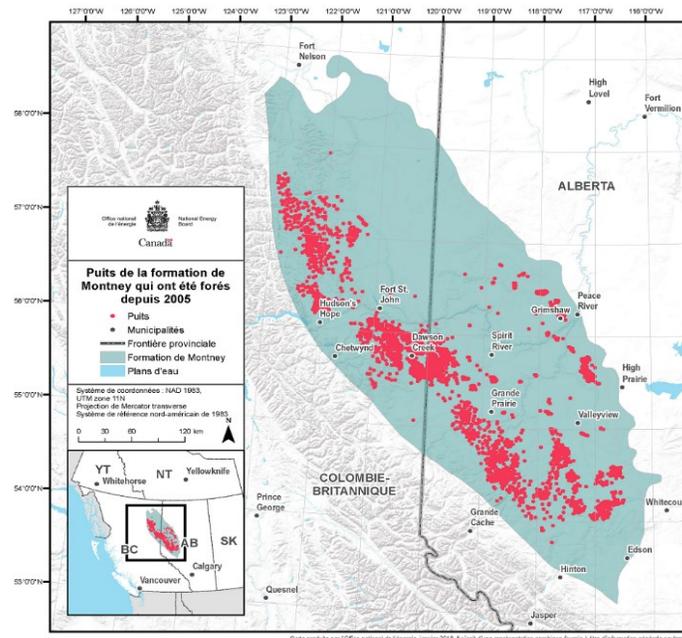


Figure 2 Cartographie de la formation de Montney et évolution de l'activité de forage depuis 2005 (source : Office National de l'Énergie)

Cette formation rocheuse fut exploitée pour la première fois dans les années 50 pour ses réserves d'hydrocarbures conventionnels. Ce n'est qu'à partir de 2005, lorsque des avancées techniques faisant appel à la fracturation hydraulique ont permis d'accéder à d'importantes réserves de gaz non-conventionnel inaccessibles jusqu'alors, que la formation de Montney a connu son véritable essor (4).

Dès lors, une accélération significative du forage de puits a été observée (**Figure 2**), passant de 88 à 3619 puits en production entre 2005 et 2019 sur la formation de *Montney* (5) pour un total de plus de 30000 puits forés en Colombie-Britannique (6). Cette progression fut telle que la production de gaz naturel issue de l'exploitation non-conventionnelle a largement dépassé celle issue de l'exploitation conventionnelle en Colombie-Britannique (**Figure 3**).

Aujourd’hui, l’exploitation de la formation de Montney est à l’origine de 86% de la production annuelle de gaz naturel de la Colombie-Britannique (5). Pouvant couvrir à elle-seule 145 années de consommation actuelle de gaz naturel du Canada, elle demeure la réserve de gaz non-conventionnel la plus importante du pays lui attribuant des perspectives de développement continu sur les décennies à venir (4).

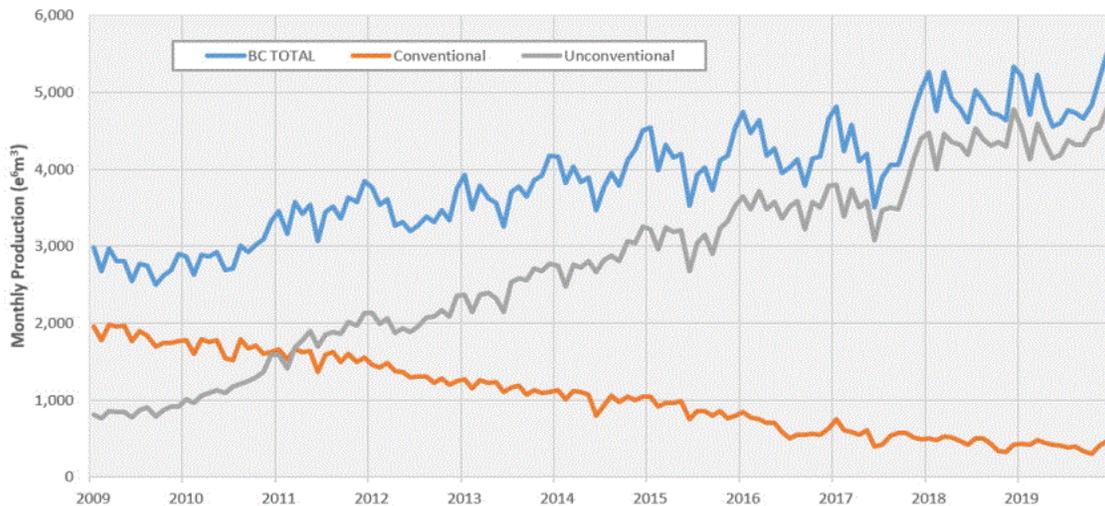


Figure 3 Progression de la production de gaz naturel de source non-conventionnelle au profit de celle issue de source conventionnelle entre 2009 et 2019 en Colombie-Britannique (source : BC oil and gas commission)

1.2. La fracturation hydraulique

1.2.1 Historique et procédé

La fracturation hydraulique a été mise au point par l’entreprise Stanolind en 1947 dans l’État du Kansas (USA) et breveté en 1949 permettant les premières utilisations commerciales la même année par l’exploitant Halliburton en Oklahoma et au Texas (USA) (7).

Initialement, la technique était utilisée pour augmenter la productivité de puits conventionnels et optimiser leur rentabilité. Mais, au début des années 2000, le couplage du forage multi-étapes avec la technique de forage horizontal, a permis à la fracturation hydraulique d’atteindre des

réerves considérables de gaz jusque-là piégés dans des formations peu ou pas perméables (gaz non-conventionnel) marquant ainsi un tournant économique et industriel décisif dans l'exploitation mondiale des énergies fossiles (6).

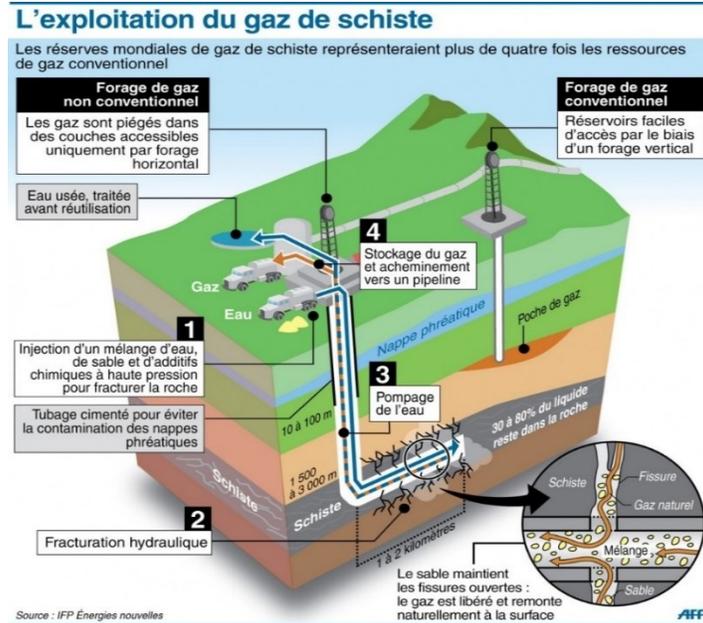


Figure 4 Schéma illustrant l'extraction des gaz conventionnels et non-conventionnels (source : Agence France Presse)

Techniquement, la fracturation hydraulique est une stimulation artificielle de la roche consistant en l'injection à haute pression d'une grande quantité de fluide de fracturation directement sur la roche-mère de faible perméabilité à l'aide de puissantes pompes. Cette injection crée des fissures qui restent ouvertes grâce aux divers constituants chimiques du fluide ainsi aux hydrocarbures piégés dans la roche de circuler et remonter par simple différence de pression vers la surface du puit où ils sont récupérés (Figure 4).

1.2.2. Fluides de fracturation hydraulique et eaux usées

La composition des fluides de fracturation varie en fonction des exploitants et de la nature géologique du gisement concerné. En général, ils sont principalement composés d'eau claire ($\approx 95\%$), d'un agent de soutènement comme le sable ($\approx 4.5\%$) ainsi que de divers additifs chimiques ($\approx 0.5\%$) permettant d'optimiser l'extraction et conserver l'intégrité de l'installation (8). L'eau claire, principal constituant de ces fluides, est directement puisée dans les aquifères régionaux impactant les réserves d'eau potable des populations locales.

Le sable, utilisé comme agent de soutènement, permet aux fractures artificiellement créées de rester ouverte afin d'assurer un flux continu au gaz désormais capable de circuler vers la surface du puit afin d'y être récupéré.

Les additifs utilisés assurent divers rôles (biocides, réducteurs de friction, surfactants) impliquant une grande diversité de substances chimiques utilisées parmi lesquelles sont retrouvées des substances déjà reconnues comme étant toxiques tels que des composés organiques volatils (COV) ou des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (9). Entre 2005 et 2013, pas moins de 1084 composés chimiques différents ont été utilisés dans la composition de fluides de fracturation hydraulique aux États-Unis (8). La plateforme « FracFocus 1.0 », qui regroupe des données sur des compositions de fluides de fracturation volontairement fournies par les exploitants (<https://www.fracfocus.org/>), a permis l'analyse de formulations de fluides injectés entre 2011 et 2013 dans plus de 38000 puits forés sur le territoire américain révélant que chacun pouvait contenir entre 4 et 28 additifs différents (dont des alcools tels que le méthanol et l'isopropanol et des corrosifs comme l'acide chlorhydrique et l'hydroxyde de sodium) (10). Cependant, il demeure actuellement impossible d'établir une liste exhaustive des additifs chimiques utilisés dans l'élaboration de ces fluides car les exploitants bénéficient du droit au secret industriel (10,11).

A l'issue de l'étape d'injection, deux types d'eaux usées sont produites. L'eau dite « de reflux », la première à être évacuée après la stimulation, composée d'un mélange d'eau et d'hydrocarbures et l'eau dite « de production », présentant une forte salinité mais dénuée d'hydrocarbures (12). D'après des données issues d'exploitation en Colombie-Britannique, entre

50 et 100% du fluide injecté sont récupérés sous forme d'eau de reflux et d'eau de production qui seront stockées en profondeur dans des aquifères dédiés (13). Dans d'autres régions, ces eaux peuvent être stockées en surface dans des bassins prévus à cet effet, décontaminées et même parfois utilisées pour de nouvelles injections de fracturation hydraulique.

Ces eaux usées sont des mélanges complexes pouvant contenir les ingrédients du fluide de fracturation originel (COV, HAP, alcools) ainsi que des contaminants environnementaux naturellement présents dans le gisement (éléments-traces) les rendant particulièrement difficiles à traiter et compliquant l'évaluation des risques toxicologiques associés (14–17).

1.2.4. Impacts sur la qualité des eaux environnantes

Au cours des différentes étapes de la fracturation hydraulique, plusieurs types d'évènements accidentels peuvent conduire à la contamination de l'environnement (air, eau, sol). Notamment lors des étapes de préparation et d'injection du fluide de fracturation puis de récupération et de stockage des eaux usées, des fuites peuvent se produire menant à la contamination des milieux et à la détérioration de la qualité des eaux environnantes (8). En Colombie-Britannique, sur les 25 119 puits recensés en 2017, 2 322 (soit 9%) ont fait l'objet d'une déclaration d'incident de fuite(s) (18).

En outre, plusieurs études ont mis en évidence une association entre les opérations de fracturation hydraulique et la contamination des eaux environnantes notamment caractérisée par des concentrations élevées en éléments-traces tels que le baryum et le strontium (19–23) et une salinité excessive dans les eaux environnantes (20,24–26) faisant de ces substances de potentiels marqueurs de contamination.

En Colombie-Britannique, une étude menée par GWSolutions analysant l'évolution de la qualité des eaux de la région de la *Peace River Valley* (située sur la formation de Montney) a également rapporté un taux anormalement élevé de baryum, des dépassements de normes (fédérales et provinciales) pour plusieurs éléments-traces ainsi qu'une salinité excessive des eaux de la région (27).

1.2.5. Impacts sur la santé humaine: état des connaissances

Plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence un lien entre vivre à proximité d'activités de fracturation hydraulique et une prévalence d'effets délétères sur le développement des nouveau-nés tels qu'un faible poids à la naissance (28–31), naissance prématurée (28,29,32–34), malformation(s) congénitale(s) (28,35–37) et un « petit poids pour l'âge gestationnel » (28,29,31,35).

En dépit de ces observations demeure un manque de données permettant de mesurer la force de l'association entre la contamination environnementale liée à la fracturation hydraulique et la prévalence d'effets sur la santé des populations (38). Concernant les pathologies développées à plus long terme, tels que les maladies neuro-dégénératives ou certains cancers, l'expansion de la fracturation hydraulique étant récente (début des années 2005), il n'existe pas encore assez de recul ni d'éléments pour évaluer l'association entre les activités de fracturation hydraulique et la prévalence de ces pathologies (28,39).

Plusieurs facteurs limitent la possibilité d'étudier un éventuel lien de causalité entre les activités de fracturation hydraulique et les effets délétères sur la santé humaine dont le manque de données de surveillance environnementale et biologique, le manque de valeurs toxicologiques de référence pour la plupart des contaminants en lien avec la fracturation hydraulique (40), la diversité et la non-exhaustivité de la liste des contaminants et la complexité de l'évaluation de la toxicité aggravée par le phénomène encore mal appréhendé qu'est l'effet « mélange ».

Néanmoins, plusieurs contaminants associés aux activités de fracturation hydraulique, testés seuls ou en mélange, ont déjà été reconnus comme toxiques notamment à travers un potentiel de perturbation endocrinienne (41–44).

Parmi ces contaminants sont retrouvés des éléments-traces dont l'exposition *in utero* peut avoir des conséquences néfastes sur le développement et la santé de l'enfant à naître faisant d'eux des éléments d'intérêt dans la surveillance de l'exposition humaine particulièrement chez les femmes enceintes.

1.3. Les éléments-traces métalliques

Les éléments-traces métalliques sont définis comme étant des éléments retrouvés normalement en très faibles quantités dans l'environnement (air, sol, eau) et donc dans nos aliments. Cette famille regroupe des métaux dits « lourds », décrits comme étant bioaccumulables et toxiques pour le vivant, et des oligo-éléments dits « essentiels » indispensables en petite quantité, notamment pour assurer des fonctions enzymatiques et métaboliques de l'organisme, mais pouvant se révéler toxiques en cas d'excès.

Les humains sont principalement exposés aux éléments-traces par l'ingestion d'eau et d'aliments (fruits, légumes, céréales, poissons, fruits de mer, café) et plus sporadiquement par inhalation (air, poussière) en milieu de travail ou *via* le tabagisme (cadmium, chrome) (45) (**Tableau 1**).

Tableau 1. – Caractéristiques des principaux éléments-traces métalliques

Éléments-traces	Voies d'exposition	Compartiment(s) biologique(s)	Si carence	Si excès (toxicité chronique)
<i>Aluminium</i> ^T	Ingestion, inhalation	Urine	-	Neurologique, respiratoire
<i>Arsenic</i> ^T	Ingestion	Urine, phanères	-	Cancérogène (formes inorganiques), perturbateur endocrinien
<i>Baryum</i> ^T	Ingestion	Urine, sang	-	Troubles cardiaques
<i>Béryllium</i> ^T	Ingestion, inhalation	Urine, sang	-	Cancérogène (inhalation)
<i>Cadmium</i> ^T	Ingestion, inhalation (tabac)	Sang, urine	-	Rénale, cancérogène, osseuse
<i>Chrome</i> ^E	Ingestion	Urine	Intolérance au glucose	Rénale, hépatique
<i>Cobalt</i> ^E	Ingestion, inhalation	Urine	-	Cancérogène (inhalation)
<i>Cuivre</i> ^E	Ingestion	Fèces, urine, phanères	Anémies, troubles développementaux	Troubles rénaux et hépatiques
<i>Fer</i> ^E	Ingestion	Sang	Anémies	Altération des organes
<i>Lithium</i> ^T	Ingestion	Urine	-	ND
<i>Manganèse</i> ^E	Inhalation, ingestion	Fèces	(Rare) Troubles osseux	Neurotoxique
<i>Nickel</i> ^E	Inhalation, ingestion	Sang, urine	ND car très rare	Cancérogène (inhalation)
<i>Plomb</i> ^T	Ingestion	Phanères, sang, urine, lait maternel	-	Risque pour l'issue de naissance
<i>Sélénium</i> ^E	Ingestion	Sang, urine	Insuffisance cardiaque (maladie de Keshan), troubles de l'immunité	Perte de phanères et fatigue (sélénose)
<i>Thallium</i> ^T	Ingestion	Urine	-	ND
<i>Vanadium</i>	Ingestion, inhalation	Urine	ND car très rare	Perturbations endocrinienne et métabolique
<i>Zinc</i> ^E	Ingestion	Urine, phanères	Troubles développementaux et de l'immunité	Anémie, troubles de l'immunité

^E : éléments considérés comme essentiels

^T : éléments considérés comme toxiques

ND = non déterminé

Sources : Georges V. Dedoussis, 2015 (45); WHO, 1996 (46); Cesar G. Fraga, 2005 (47); IOM, 2001 (48); Conor Reilly, 2002 (49); Sigel et coll., 2013 (50).

1.4. Surveillance biologique

1.4.1. Échantillonnage et variabilité

L'analyse de contaminants environnementaux, et/ou de leurs métabolites, à partir d'échantillons biologiques est un outil essentiel car il permet d'évaluer la dose interne reçue par les individus en tenant compte de toutes les sources et voies d'exposition. En fonction de la toxicocinétique (absorption, distribution, métabolisme, excrétion) de la substance étudiée et du contexte d'exposition, différentes matrices peuvent être privilégiées telles que les cheveux, les ongles, le sang ou l'urine. Le choix de la matrice est primordial car cette dernière peut impacter le signal analytique (« effet matrice ») et conditionner l'obtention de données exploitables. Les phanères (cheveux et ongles) présentent l'avantage de pouvoir tracer une exposition cumulative à moyen-long terme tandis que le prélèvement sanguin permet d'accéder à une matrice ayant été en contact avec tous les organes. L'urine, quant à elle, est souvent privilégiée dans les études de biosurveillance pour les avantages liés à sa collecte (non-invasive) et car la plupart des contaminants (et/ou métabolites) y sont excrétés (51).

Les données de biosurveillance humaine sont couramment utilisées dans l'évaluation des risques toxicologiques, car elles peuvent être comparées à des valeurs d'exposition de référence permettant de situer l'exposition de populations exposées par rapport à celle de populations non exposées (52) à des substances ou des activités particulières.

La majeure partie des études épidémiologiques et/ou de biosurveillance utilise l'échantillonnage biologique unique dont les valeurs obtenues représentent l'exposition d'individus d'une population à un moment précis et qui n'est donc pas nécessairement représentative de l'exposition moyenne ou à long terme. Plusieurs facteurs, tels que la demi-vie des contaminants et le profil temporel d'exposition, peuvent affecter la variabilité à court-terme de la présence des contaminants et/ou métabolites analysés (53). L'évaluation des risques liés à l'exposition aux contaminants environnementaux se base généralement sur des valeurs guides élaborées pour une exposition chronique; les données de biosurveillance associées devraient donc être les plus représentatives de l'exposition à long terme (54). Afin d'optimiser la stratégie d'échantillonnage et se rapprocher de cet objectif, il est nécessaire d'intégrer des informations sur la variabilité

propre aux individus en fonction des substances analysées. Pour répondre à cette problématique, le calcul d'un coefficient de corrélation intraclasse (CCI) peut être appliqué sur des données issues d'un échantillonnage répété afin de mesurer l'impact de la variabilité intra-individuelle par rapport à la variabilité totale (intra- et inter-individuelle) et ainsi déterminer la représentativité d'un échantillon unique pour évaluer l'exposition moyenne d'un individu de la substance analysée.

1.4.2. Données de biosurveillance associées à la fracturation hydraulique

A l'heure actuelle, il n'existe que deux études de surveillance de l'exposition populationnelle en lien avec les activités de fracturation hydraulique à travers des échantillons biologiques. La première qui fût menée aux États-Unis, dans la région de Pavillion (Wyoming), a permis d'associer la pollution des eaux souterraines par des COV avec les activités de fracturation hydraulique environnantes (25) et de mettre en évidence l'exposition anormale de la population à plusieurs COV dont le benzène, cancérigène reconnu (55).

La deuxième étude, publiée par notre équipe de recherche en 2019, a constitué l'étude pilote qui a instigué le projet *Exposure in the Peace River Valley* (EXPERIVA), sujet du présent travail. Cette étude pilote a été menée en Colombie-Britannique, dans la région de la formation de Montney, sur une cohorte de 29 femmes enceintes ayant fourni des échantillons d'urine et de cheveux dans lesquels ont été mesurés plusieurs contaminants associés à la fracturation hydraulique (COV, éléments-traces). Les résultats ont montré que la population à l'étude pouvait être particulièrement exposée à plusieurs éléments-traces tels que l'aluminium, le baryum, le manganèse et le strontium en comparaison à des populations de référence (56).

De plus, l'étude a révélé des concentrations en baryum, gallium et strontium significativement plus élevées dans une sous-population de femmes autochtones par rapport à celle de femmes non-autochtones (56).

Malgré leurs limitations, ces deux études ont soulevé la nécessité d'obtenir plus de données de biosurveillance d'exposition à des contaminants liés aux activités de fracturation hydraulique, en

particulier chez les femmes enceintes particulièrement vulnérables à ces contaminants environnementaux pouvant causer des troubles développementaux chez le fœtus et des effets sur toute la vie de l'individu. Ces données de biosurveillance sont nécessaires à l'évaluation des risques associés à ces activités et permettront de déterminer la nécessité ou non de la mise en place de mesures de mitigation pour réduire le risque.

1.4.3. Surveillance des populations vulnérables

Les pathologies associées à des expositions environnementales ont des causes plurifactorielles dont font partie les caractéristiques même de la substance et des paramètres biologiques propres à chaque individu (génétique, âge, sexe, condition de santé etc.) (57) rendant plus vulnérables certaines populations. En l'occurrence, l'exposition des femmes enceintes à des contaminants constitue une problématique de premier plan car certains, comme les éléments-traces, sont capables de passer la barrière placentaire, atteindre le fœtus et causer des troubles développementaux, neurologiques et/ou endocriniens (58). Cette contribution précoce à l'*exposome* de l'individu (c.-à-d. l'ensemble des expositions d'un individu depuis son existence *in-utero* jusqu'à son décès), dont le développement et les mécanismes de détoxification sont inaboutis, peut favoriser le développement de pathologies à plus ou moins long terme au cours de sa vie. Pour ces raisons, la surveillance de l'exposition gestationnelle aux contaminants environnementaux est un point central pour surveiller et améliorer la santé des populations sur le long terme.

Les membres des premières Nations vivant à proximité de ces activités industrielles ont soulevé des préoccupations en ce qui a trait à la pollution induite de leur environnement impactant la vie sauvage, les plantations et la qualité des eaux, la pollution sonore et visuelle de leurs territoires et plus globalement leur santé ainsi que celle de leur communauté (11). La surveillance de l'exposition de ces populations est essentielle pour l'identification et la mise en lumière de problématiques sanitaires permettant ainsi de soulever la nécessité de mise en place de mesures de mitigation pour protéger ces communautés et préserver leur environnement nourricier.

1.5. Problématiques

Le manque de données de surveillance dû à l'expansion rapide de la fracturation hydraulique, notamment dans la région de la formation de Montney, empêche l'évaluation des risques toxicologiques encourus par les populations environnantes et leur milieu. Les femmes enceintes et leur fœtus, dont l'exposition aux toxiques est particulièrement critique, constituent une population vulnérable. L'évaluation de l'exposition de ces femmes exposées à des contaminants environnementaux est donc primordiale.

L'utilisation de matrices biologiques pour la surveillance d'exposition revêt plusieurs problématiques dont la variation intra-individuelle inhérente à la substance (demi-vie) et à la période d'échantillonnage. Afin de considérer cette notion de variabilité et éviter des erreurs de classification d'exposition, il est nécessaire d'obtenir plus d'informations quantitatives sur la variabilité intra- et inter-individuelle inhérente à une substance et à la technique d'échantillonnage permettant ainsi d'aiguiller les futurs protocoles d'études de surveillance d'exposition.

1.6. Objectifs

Les objectifs de ce projet de recherche étaient 1) d'évaluer l'exposition gestationnelle à des éléments-traces chez des femmes vivant à proximité d'activités de fracturation hydraulique à travers des mesures urinaires répétées, 2) de comparer ces concentrations à celles de populations féminines nord-américaines de référence et 3) d'évaluer la variabilité intra- et inter-individuelle inhérente aux éléments analysés et à la méthodologie d'échantillonnage.

2. Matériel et méthodes

2.1. Localisation de l'étude et recrutement

L'étude EXPERIVA s'est déroulée en Colombie-Britannique dans la région de la *Peace River Valley*, qui repose sur la formation de Montney, zone d'intenses activités de fracturation hydraulique, et qui abrite les territoires de plusieurs Premières Nations.

En amont du recrutement, notre équipe de recherche a présenté son projet aux membres des Premières Nations locales, dont la *Treaty 8 Tribal Association*, la *Saulteau First Nations* et la *West Moberly First Nations*, afin de les informer du contenu de notre étude, de leur expliquer nos objectifs et d'obtenir leur consentement éclairé. Préoccupés par l'impact des activités d'extraction sur leur Terre et par la santé de leur communauté, ces associations ont joué un rôle central dans cette étude notamment dans le recrutement des participantes en communiquant au sein de leur communauté, instaurant ainsi un lien de confiance précoce entre les participantes et notre équipe. En juste retour et par respect envers les croyances sacrées des Premières Nations, nous comprenons que les échantillons prélevés, qu'ils soient biologiques ou environnementaux, sont des « prêts » qui seront ensuite rendus à la nature.

La période de recrutement et échantillonnage s'est déroulée entre les mois de mai et septembre 2019 au cours desquels 92 femmes enceintes, âgées de plus de 18 ans et capables de comprendre et s'exprimer en anglais, ont été recrutées dans quatre cliniques dispensant des suivis de grossesse, dans les communautés de Chetwynd et Dawson Creek. Les patientes ont été informées de l'existence de l'étude par l'équipe médicale au sein de leur centre de suivi et ont été rencontrées à leur demande par un membre de notre équipe afin de leur présenter le projet et répondre à d'éventuelles questions. Les femmes souhaitant intégrer l'étude ont ensuite été invitées à signer un formulaire de consentement éclairé avant de commencer le protocole.

Le protocole d'étude ainsi que le formulaire de consentement ont été approuvés par le comité d'éthique de l'Université de la Colombie-Britannique, le « *Northern Health Research Review Committee* », et par le Comité d'Éthique de la Recherche Clinique de l'Université de Montréal (#CERC-18-003-P).

2.2. Collecte des données et échantillonnage

Une fois enrôlées dans l'étude, les participantes ont reçu les consignes ainsi que le matériel nécessaire aux prélèvements à venir. L'échantillonnage urinaire (non-invasif) a été favorisé pour ses avantages techniques et logistiques assurant ainsi le plus haut taux de participation possible. Les participantes ont été invitées à prélever elles-mêmes un échantillon urinaire par jour pendant 7 jours consécutifs, de préférence au même moment de la journée, et à stocker ces derniers à -20°C dans leur congélateur personnel.

Une fois l'échantillonnage effectué, elles ont été amenées à remplir un questionnaire portant principalement sur leur situation socio-démographique (âge, situation familiale et professionnelle, niveau d'éducation) et leurs habitudes de vie (boisson, alimentation, tabagisme).

Les échantillons urinaires ont ensuite été récupérés et acheminés, sur glace, vers le laboratoire de l'Université de Montréal par un membre de notre équipe.

Sur les 92 femmes enceintes recrutées initialement dans l'étude, 85 ont été en mesure de fournir des échantillons d'urine. Certaines participantes n'ont pu recueillir qu'une partie des 7 échantillons, portant à 582 le nombre d'échantillons urinaires collectés et à 13 le nombre d'échantillons urinaires manquants.

Dans le cadre du projet EXPERIVA, en plus des urines, des prélèvements environnementaux (air, eau) et de phanères (ongles et cheveux) ont été effectués. Seuls les prélèvements urinaires seront considérés dans le cadre du présent travail.

2.3. Analyses chimiques

Au total, 20 éléments-traces métalliques (aluminium, arsenic, baryum, béryllium, cadmium, chrome, cobalt, cuivre, fer, gallium, lithium, manganèse, nickel, plomb, sélénium, strontium, thallium, uranium, vanadium, zinc) ont été choisis pour être mesurés dans les urines des participantes. La présence de ces métaux ayant été mise en évidence dans des eaux usées issues d'activités de fracturation hydraulique, ces éléments pourraient être considérés comme

potentiels marqueurs de contamination des eaux claires par ces eaux usées. Bien que ces marqueurs soient peu spécifiques, leur mesure dans divers milieux pourrait permettre dans un premier temps de mieux comprendre les voies et sources d'exposition aux contaminants en lien avec les activités de fracturation hydraulique.

Les concentrations urinaires en métabolites de composés organiques volatiles (COVs) sont en cours de mesure et feront l'objet d'un futur travail.

Dans un premier temps, après leur décongélation, les échantillons urinaires ont subi une phase de digestion en étant dilués 5 fois dans une solution d'acide nitrique à 2% et chauffés à 45°C afin de dissoudre les sédiments urinaires et limiter les interférences analytiques. Les solutés obtenus ont ensuite été introduits dans l'ICP-MS réglé selon les paramètres suivants : puissance du plasma de 1550 Watts, débit de nébulisation à 0,65 litres d'Argon/minute, débit de dilution à 0,41 litres d'Argon/minute et débit de 5 mL d'Helium/minute dans la cellule collision/réaction. Les limites de détection (LOD) analytiques obtenues étaient comprises entre 0,013 (V) et 1,45 (Al) ng/mL d'urine. Les concentrations urinaires de ces éléments ont ensuite été mesurées à l'aide d'un spectromètre de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS) 7700x (*Agilent, Mississauga, Canada*) dans une salle blanche prévue à cet effet (standard ISO 3 146442-1).

Parallèlement, la créatinine urinaire a été mesurée dans chaque échantillon en utilisant la réaction colorimétrique de Jaffé (59), ce afin de tenir compte de l'excrétion urinaire en ajustant les concentrations urinaires en éléments-traces lors du traitement statistique.

Les aliquotages, le stockage à -20°C ainsi que les analyses subséquentes des échantillons urinaires ont été effectués au sein de l'Unité biomarqueurs de la plateforme Xénobiotiques et nanoparticules gérée par Michèle Bouchard à l'Université de Montréal.

2.4. Analyses statistiques

Les données recueillies dans les questionnaires personnels ont été retranscrites numériquement dans un tableur informatique par un membre de l'équipe permettant ainsi de discerner les caractéristiques socio-démographiques globales de la population à l'étude (âge maternel, âge gestationnel, habitudes de vie, etc.).

L'ensemble des concentrations urinaires en éléments-traces ont été regroupées dans un tableur puis ont été intégrées au logiciel R Studio qui a permis de réaliser toutes les analyses statistiques décrites plus bas. (RStudio Team, 2019) Pour chaque élément-trace, les valeurs inférieures à la LOD (limite de détection) ont été remplacées par des valeurs extrapolées grâce à l'outil *Regression on Order Statistics* (ROS) (package NADA).

Les concentrations urinaires ont alors été pondérées par leur concentration de créatinine afin de tenir compte de l'excrétion urinaire variable. Nous avons ensuite réalisé des analyses statistiques descriptives afin d'évaluer la normalité de la distribution ainsi que les 50^e et 95^e percentiles des distributions de concentrations propres à chaque élément-trace.

Ayant été obtenues à partir d'un échantillonnage répété les concentrations urinaires ont pu faire l'objet d'une évaluation de la variabilité intra- et interindividuelle à travers le calcul d'un coefficient de corrélation intraclass (CCI) pour chaque élément-trace. Le CCI est un index compris entre 0 et 1 obtenu en calculant le rapport entre la variance inhérente aux variations entre individus (variabilité interindividuelle) et la somme de cette dernière avec celle inhérente aux variations propres à un même individu (variabilité intra-individuelle).

Un CCI tendant vers 0 indique que, comparativement à la variabilité interindividuelle, la variabilité intra-individuelle est plus importante et influe plus sur la variance totale, suggérant qu'un échantillon biologique unique peut être insuffisant pour évaluer adéquatement l'exposition d'un individu au composé donné et pour différencier son exposition de celle d'un autre individu. Inversement, un CCI tendant vers 1 indique qu'un échantillon biologique unique peut être suffisant pour refléter justement l'exposition individuelle pour un composé donné.

Nos distributions étant plutôt asymétriques, une transformation logarithmique a été appliquée sur l'ensemble des données afin de les rapprocher de la normalité. Suivant les recommandations de *Liljequist et al.* (60), trois formules de calcul de CCI ont été testées nous permettant de constater l'absence d'erreur systématique (biais) et de choisir les paramètres suivants pour calculer les CCI : *one-way random effect, consistency, single rater*.

2.5. Comparaison aux valeurs de référence et interprétation des CCI

Afin de comparer l'exposition de notre population à celle de populations de référence semblables, nous avons cherché des données de biosurveillance issues d'études nord-américaines portant sur des populations féminines « saines ». Deux cohortes ont finalement été sélectionnées :

- L'Enquête Canadienne sur les Mesures de la Santé (ECMS), 2^{ème} cycle réalisé entre 2009 et 2011 par Statistique Canada en collaboration avec Santé Canada et l'Agence de la santé publique du Canada : sous-population de femmes âgées de 20 à 39 ans.
- Le « *National Health and Nutrition Examination Survey* » (NHANES), 9^{ème} cycle réalisé aux États-Unis entre 2015 et 2016 par le « *Centers for Disease Control and Prevention* » (CDC) : sous-population de femmes âgées de 6 à 79 ans.

Les concentrations urinaires en éléments-traces ajustées à la créatinine (en µg/g de créatinine) de ces sous-populations ont été considérées comme valeurs de référence.

Concernant l'interprétation des coefficients de corrélation intraclasse (CCI), nous avons utilisé l'échelle d'interprétation élaborée par *Koo et Li* (61) qui tient compte des bornes inférieures et supérieures comprises dans l'intervalle de confiance à 95% (IC95) afin d'affiner l'interprétation des résultats (**Tableau 2**).

Tableau 2. – Illustration de l'échelle d'interprétation des CCI selon *Koo et Li* (61)

Borne inférieure (IC95)	Borne supérieure (IC95)	Interprétation de la fiabilité
< 0,50	< 0,50	Faible
< 0,50	0,50 - 0,75	Faible à modérée
> 0,50	< 0,75	Modérée
0,50-0,75	> 0,75	Modérée à bonne
> 0,75	< 0,90	Bonne
0,75 – 0,90	> 0,90	Bonne à excellente
> 0,90	> 0,90	Excellente

3. Article

CONTRIBUTION DES AUTEURS

Lucie Claustre

- A travaillé en étroite collaboration avec son directeur de maîtrise, Marc-André Verner, afin de déterminer les analyses statistiques à mettre en œuvre pour répondre aux problématiques de l'étude;
- A travaillé sur la gestion et la mise en forme des données brutes et réalisé les analyses statistiques subséquentes à l'aide du logiciel RStudio;
- A effectué l'interprétation des données en étroite collaboration avec son directeur de maîtrise;
- A rédigé l'article scientifique en anglais et y a intégré les commentaires des co-auteurs.

Marc-André Verner

- A élaboré et mis en œuvre le projet de recherche;
- A travaillé à l'interprétation et la stratégie de présentation des données, en collaboration avec Lucie Claustre;
- A contribué à la révision de diverses versions de l'article en collaboration avec Lucie Claustre;
- A supervisé Lucie Claustre durant toutes les étapes de son projet de recherche.

Elyse Caron-Beaudoin :

- A élaboré et mis en œuvre le projet de recherche;
- A piloté les phases de recrutement et d'échantillonnage;
- A apporté ses conseils pour la présentation des résultats;
- A fourni des commentaires et corrections à l'article scientifique.

Michèle Bouchard

- A accueilli la phase analytique au sein de son laboratoire (Unité biomarqueurs de la plateforme Xénobiotiques et nanoparticules de l'UdeM);
- A élaboré les protocoles analytiques.

Delphine Bosson-Rieutort

- A apporté ses conseils sur la sélection et la faisabilité des analyses statistiques;
- A travaillé en étroite collaboration avec Lucie Claustre à la mise en œuvre des tests statistiques et à la présentation des résultats subséquents à l'aide du logiciel R.

Lilit Gasparyan

- A collaboré et aidé à la mise en forme des données brutes.

Assessing gestational exposure to trace elements in an area of hydraulic fracturing activity: comparison with reference populations and evaluation of variability

Lucie Claustre^{1,2}, Michèle Bouchard^{1,2}, Lilit Gasparyan^{1,2}, Delphine Bosson-Rieutort^{2,3}, Élyse Caron-Beaudoin^{4,5} and Marc-André Verner^{1,2}

- 1- Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Université de Montréal, Montreal, QC
- 2- Center for Public Health Research (CRESP), Université de Montréal, Montreal, QC
- 3- Department of Health Policy, Management and Evaluation, School of Public Health, Université de Montréal, Montreal, QC
- 4- University of Toronto Scarborough, Department of Health and Society, Department of Physical and Environmental Sciences, Toronto, ON
- 5- Center for Clinical Epidemiology and Evaluation, Vancouver Coastal Health Research Institute, University of British Columbia, Vancouver, BC

Corresponding author:

Marc Andre Verner

Department of Environmental and Occupational Health

Université de Montréal

Pavillon Marguerite d'Youville

2375 chemin de la Côte-Sainte-Catherine, Suite 4105

E-mail : marc-andre.verner.1@umontreal.ca

Telephone: (514) 343-6465

3.1. Abstract

Located in Northeastern British-Columbia, the Montney formation is an important area of gas exploitation by hydraulic fracturing which can release contaminants like trace elements. Gestational exposure to these contaminants may lead to deleterious developmental effects. Our study aimed to assess gestational exposure to trace-elements in women living in this region through repeated urinary measurements, to compare these values to those from reference populations, and to evaluate inter- and intra-individual variability. 85 pregnant women participating in the Exposures in the Peace River Valley (EXPERIVA) study provided daily spot urine samples over 7 consecutive days. Samples were analyzed for 20 trace elements. Descriptive statistics were performed, and variability was evaluated through intraclass correlation coefficient (ICC) calculation for each trace element. When compared with those from North American populations, median urinary levels were higher in our population for barium (2 times), cobalt (3 times) and strontium (2 times). The 95th percentile of reference populations was exceeded at least 1 time by many participants during the week for barium (58%), cobalt (73%), copper (29%), manganese (28%), selenium (38%), strontium (60%) and vanadium (100%). ICCs varied from 0.288 to 0.722 depending on the trace element. Our results suggest that pregnant women living in this region may be more exposed to certain trace elements (barium, cobalt, copper, manganese, selenium, strontium, and vanadium), and that one urine spot sample could be insufficient to adequately estimate exposure to certain trace elements.

Keywords: trace elements, exposure, pregnant women, biomonitoring, intra-individual variability, hydraulic fracturing

3.2. Introduction

Unconventional natural gases, like shale or tight gas, are found in low permeability reservoirs and are extracted using hydraulic fracturing process. Located in Northeastern British Columbia, the Montney Formation is one of the biggest unconventional gas reserves in the world and accounts for 86% of the British Columbia annual natural gas production (1). Since 2005, coupling of horizontal drilling and multi-stage hydraulic fracturing have provided access to more supply (2) and the number of producing wells drilled in the Montney formation dramatically increased from 88 to 3,619 between 2005 and 2019 (1). Since, fracking methods have gradually replaced conventional operations in the region (3), and approximately 30,000 wells have been drilled in Northeastern British Columbia (4).

Hydraulic fracturing involves high-pressure injection of a mixture composed by water, proppants and chemicals to fracture the rock, keep the fractures open and thus allow the flow of gas. Wastewater produced from this process may contain chemicals from fracturing fluid (e.g., volatile organic compounds) and/or naturally occurring contaminants present in the deep saline aquifers of the formation such as aluminum, barium, cadmium, manganese and strontium (5–10).

Hydraulic fracturing and its procedures pose environmental problems, including water contamination. Incidents may occur during the different steps of production leading to accidental spills or leakages (11–14) and may negatively impact stream-water quality for several years (15). Sitting on the Montney Formation, The Peace River Valley has seen its water quality decrease at the same time as hydraulic fracturing activity was expanding in the region. This phenomenon was characterized by trace elements levels exceeding water guidelines and an unexpected increase in barium levels in surface and groundwater (16).

Although current evidence remains insufficient to determine a clear causality, several studies observed adverse health effects associated with hydraulic fracturing development, including adverse pregnancy outcomes (17). Epidemiological studies reported associations between the proximity of wells surrounding participants' houses and low birth weight (18–21), preterm deliveries (18,19,22–24), congenital birth defects (18,25–27) and increased small for gestational age (SGA) (18,19,21,26).

The reasons for the observed adverse health outcomes are still unknown but could be related to environmental contamination. Some trace elements (i.e., cadmium, lead, mercury) can pass through the placental barrier, possibly accumulating in the fetus and cause deleterious developmental effects (neurological, developmental and endocrine disorders) (28). Recently, associations were found between increased maternal exposure to cadmium and manganese and increased risk of neurodevelopmental disorders (29) and a higher maternal exposure to vanadium and prevalence of adverse birth outcomes (30). Prenatal exposure to cadmium has been associated with low birth weight (31).

Our research team carried out a pilot study in 2016 in the Peace River Valley region to evaluate gestational exposure to contaminants related to hydraulic fracturing activity. When compared to reference population data, the 29 pregnant women participating in the study had higher urinary levels of several trace elements (e.g., aluminum, barium, strontium, manganese) and benzene metabolites (32,33). Moreover, the median hair levels of barium, strontium and gallium were significantly higher in self-identified Indigenous women compared to non-indigenous women, suggesting there may be an environmental justice issue (32). However, the small number of participants and the analytical strategy (pooled urine samples) did not allow either to reflect the temporal variation or report a robust estimate of the exposure to trace elements of pregnant women living near an area of fracking activity.

The results of our previous pilot study (2016) were the catalyst of a larger biomonitoring initiative called Exposures in the Peace River Valley (EXPERIVA) study. In the present analysis, we aimed to 1) measure concentrations of trace elements in repeated urine samples collected in EXPERIVA study participants; 2) compare concentrations to those of North American female reference populations; and 3) assess the intra- and interindividual variability in urinary trace elements concentrations.

3.3. Methods

Recruitment and study population

This study took place in the Peace River Valley region (British Columbia, Canada), which is an important area of unconventional gas exploitation. Because we intended to include Indigenous women in our study, we previously obtained the informed consent from the West Moberly First Nations, Saulneau First Nations and Treaty 8 Tribal Association. This study also received the approval from the Northern Health Research Review Committee and the Université de Montréal Institutional Review Board (#CERC-18-003-P).

Between May and September 2019, 92 pregnant women (≥ 18 years old, English speaking) have been recruited during their prenatal follow up in four clinics located in Chetwynd and Dawson Creek. They were informed about our research and invited to ask questions prior to providing written consent. Participants who agreed to participate received the instructions and the necessary material for urine and air collection at home. After the urine sample collection period, a research team member visited the participants at their residence and collected the frozen urine samples, hair samples and toenails samples. In addition, the research team member administered a questionnaire to collect information on participants' pregnancy, anthropometric measurements, residence, income, occupation, perceived health, habits, diet, drinking water, and environment quality.

Urine sample collection

Participants collected urine samples (~50 mL) once a day over seven consecutive days to assess variability in day-to-day exposure. Urine samples were kept in the participant's freezer (-20°C) until transportation on ice to the laboratory located in Montreal for subsequent analyses. A total of 582 urine spot samples were gathered (13 of the 595 foreseen samples were missing).

Analytical methods

Chemical analyses were performed at the “Xenobiotics and Nanoparticles platform” managed by Michèle Bouchard at the University of Montreal. Twenty trace elements (aluminum, arsenic, barium, beryllium, cadmium, chromium, cobalt, copper, gallium, iron, lead, lithium, manganese, nickel, selenium, strontium, thallium, uranium, vanadium, zinc) were measured in urine samples using inductively coupled mass spectrometry (ICP-MS) 7700x (Agilent, Mississauga, Canada) in a trace-element clean room (ISO 3 standards 146442-1). Limits of detection varied between 0.013 and 1.45 ppb depending on the trace element (**Table S2**). The same technical characteristics as the pilot study were used (32). Beside trace elements measurements, creatinine levels were measured in urine samples using Jaffe’s reaction (picric acid method).

Statistical analyses

All urinary levels that were below the limit of detection (LOD) were imputed using a Regression in Order Statistics and were expressed on a creatinine basis to consider the degree of the urine dilution. Trace elements detected in less than 30% of all samples were excluded from statistical analyses. Based on all spot samples (n=582), descriptive statistics were performed to assess the normality of distribution and to obtain the 50th and 95th percentile of each trace element.

Differences between median urinary concentrations were tested between self-identified Indigenous and non-Indigenous participants using the non-parametric Mann-Whitney U test.

All data analyses were performed using “R Studio” software (R Core Team, 2019).

Reference populations

To compare our descriptive statistics with those from reference populations we considered values from two databases: the 2nd Cycle of the Canadian Health Measures Survey (34) and the 9th Cycle of the US National Health and Nutrition Examination Survey (35). We selected urinary reference values, creatinine adjusted, from female participants (20-39 years old for CHMS and 6-79 years old for NHANES). For aluminum, chromium, gallium, iron and lithium we did not find reference values from female North American populations to compare with our data.

Intraclass correlation coefficient

Because it considers all the routes and sources of exposure, human biological monitoring is commonly used for quantifying exposure to environmental contaminants. However, the number of biological samples required to collect to adequately reflect an individual's average exposure is much debated, and studies have shown that using a single sample to assess exposure to certain contaminants may lead to increased bias and risk of misclassification of exposure (36,37). Studies have already shown significant temporal variability in trace elements urinary levels suggesting that one spot sample could be inappropriate to represent both average and peaking exposure and may lead to exposure misclassification (38–42).

The intraclass correlation coefficient (ICC) is the ratio between intra-individual and inter-individual variability. This index allows us to evaluate the ability of an analytical method to differentiate the exposure of one person from another by measuring the weight of intra-individual versus inter-individual variability (43). An ICC close to 0 indicates that the intra-individual variability is much greater than the inter-individual variability meaning that a single spot-sample may be insufficient to adequately characterize an individual's average exposure. Conversely, an ICC close to 1 indicates a good reliability meaning that a single sample may be sufficient.

Intraclass correlation coefficients (ICCs) were calculated using the “irr” package for each trace element. Due to their skewed distribution, urinary concentrations have been log-transformed to improve normality before ICCs calculations. Aiming to select a method for ICC calculation, we followed recommendations from *Liljequist et al.* which advocates to testing the three single-score ICC formulas and observe the presence or absence of bias (43). The absence of bias allowed us to use the one-way random effect formula (i.e., “one-way random effects model”, “single rater”, “consistency”).

To interpret our ICC values, we used guidelines provided by *Koo and Li* recommending to consider the 95% confidence interval, rather than the estimate alone, to better account for statistical inference. Therefore, the 95% confidence interval upper bound of an ICC estimate less than 0.5 indicates a poor reliability, ranging from less than 0.5 to 0.50-0.75 a poor to moderate reliability,

between 0.50 and 0.75 a moderate reliability, between 0.50-0.75 and above 0.75 a moderate to good reliability, between 0.75 and 0.90 a good reliability, between 0.75-0.90 and above 0.90 a good to excellent reliability and above 0.90 for both an excellent reliability (44).

3.4. Results

Characteristics of our study population

Among the 92 recruited pregnant women, 85 were able to provide urine samples during the week. The median maternal age of our population was 29 years old, and the median gestational duration was 23 weeks (**Table 1**).

Descriptive statistics and comparison with reference populations

Beryllium and uranium were excluded from analyses because they were detected in respectively 26% and 2% of our samples. Manganese was detected in 70% of urine samples and other trace elements in 94 to 100% of samples (**Table 2**). Median urinary concentrations of barium and strontium in study participants were two times higher than those from NHANES. Compared with CHMS, the median urinary concentration of cobalt was three times higher (**Table 2**). 50th and 95th percentiles of urinary vanadium concentrations were at least 2 and 5 times higher than those from the CHMS which were below the LOD ($< 0.100 \text{ ug/L}$) (**Table 2**). The 95th percentiles from reference populations were exceeded at least one time during the week by an important percentage of study participants for barium (58%), cobalt (73%), copper (29%), manganese (28%), selenium (38%) strontium (60%) and vanadium (100%). Concentrations of other trace elements were similar or lower compared to those from reference populations. Urinary reference values were not available from CHMS or NHANES for aluminum, chromium, gallium, iron and lithium, preventing comparison of our data for those trace elements. In CHMS (2nd cycle), iron levels were preferentially measured in blood through serum ferritin levels because of its affinity for this protein. Moreover, nationally representative data are available for aluminum and lithium in blood.

Intraclass coefficient correlation (ICC)

An estimate of the ICC as well as the upper and lower bounds were calculated for each trace element. We found ICC estimates ranging from 0.288 (iron) to 0.722 (cobalt) (**Table 3**). Following the general guidelines from *Koo and Li* (44), six trace elements could be considered as poor reliability, nine as poor to moderate reliability, one as moderate reliability and two as moderate to good reliability (**Table 3**).

Comparison of the exposure between Indigenous and non-Indigenous participants

We observed statistically significantly higher urinary manganese levels in self-identified Indigenous participants (median: 0.19 ug/g creatinine) compared with non-Indigenous participants (median: 0.15 µg/g of creatinine) (*p-value* = 0.012).

Other trace elements concentrations were higher in self-identified Indigenous women than in non-Indigenous women but were not significant. These included cobalt (1.11 VS 0.86 µg/g of creatinine; *p-value*=0.120), copper (10.40 VS 9.03 µg/g of creatinine; *p-value*=0.166), barium (3.14 VS 2.82 µg/g of creatinine; *p-value*=0.524), gallium (0.21 VS 0.17 µg/g of creatinine; *p-value*=0.317) and zinc (232.63 VS 213.19 µg/g of creatinine; *p-value*=0.332).

Table 1: selected characteristics of participants

Characteristic	All participants (n=85)	Indigenous (n=15)	Non-Indigenous (n=70)
	Median (min - max)	Median (min - max)	Median (min - max)
Maternal age (years)	29 (18-40)	28 (18-40)	29 (20-38)
Gestational duration (weeks)	23 (7-39)	31 (7-37)	23 (7-39)
Smoker at time of recruitment	n (%)	n (%)	n (%)
Yes daily	4 (5)	1 (7)	3 (4)
Yes occasionally	3 (3)	1 (7)	2 (3)
No	78 (92)	13 (86)	65 (93)
Exposed to second-hand smoke during pregnancy			
Yes every day	3 (4)	0	3 (4)
Yes almost every day	2 (2)	0	2 (3)
Yes at least once a week	4 (5)	0	4 (6)
Yes at least once a month	3 (4)	1 (7)	2 (3)
Yes less than once a month	8 (9)	2 (13)	6 (9)
No	65 (76)	12 (80)	53 (75)
Main source of drinking water *			
Tap water	26 (31)	3 (20)	23 (33)
Filtered tap water	23 (27)	3 (20)	20 (29)
Bottled water	39 (46)	9 (60)	30 (43)
Number of urine samples collected	582 (100)	103 (18)	479 (82)

* certain participants declared two main sources of drinking water

Table 2: Urinary trace elements measurements from EXPERIVA: detection frequency, comparison with reference values from the 2nd cycle of the CHMS and the 9th cycle of the NHANES ($\mu\text{g/g}$ of creatinine)

Trace elements	Detection frequency (% of all samples)	EXPERIVA study		CHMS 2nd cycle (women 20-39 years old)		NHANES 9th cycle (women 6-79 years old)	
		Median	95th percentile	Median	95th percentile	Median	95th percentile
Aluminum	98	6.82	23.04	NA	NA	NA	NA
Arsenic	100	5.24	41.02	6.60	76.00	5.94	48.20
Barium	98	2.87	13.59	NA	NA	1.39	5.25
Cadmium	98	0.12	0.32	0.34	0.85	0.19	0.92
Chromium	99	0.24	0.76	NA	NA	NA	NA
Cobalt	100	0.88	3.16	0.27	0.89	0.53	1.70
Copper	100	9.17	23.23	9.60	17.00	NA	NA
Gallium	97	0.17	0.63	NA	NA	NA	NA
Iron	100	6.26	19.50	NA	NA	NA	NA
Lead	94	0.20	0.78	0.38	1.10	0.32	1.22
Lithium	100	28.15	94.28	NA	NA	NA	NA
Manganese	70	0.16	0.73	< 0.200	0.61	< 0.130	0.64
Nickel	100	1.41	3.77	1.20	3.90	NA	NA
Selenium	100	56.26	121.53	46.00	88.00	NA	NA
Strontium	100	194.88	463.34	NA	NA	109.00	291.00
Thallium	99	0.20	0.41	0.21	0.57	0.19	0.46
Vanadium	96	0.19	0.53	< 0.100	< 0.100	NA	NA
Zinc	100	215.67	593.79	250.00	540.00	NA	NA

Table 3: Intraclass correlation coefficient (ICC) estimates, 95% confidence intervals lower and upper bounds and their interpretation following *Koo and Li* (44) guideline for each trace element

Trace element	ICC estimate	IC95 lower bound	IC95 upper bound	Reliability interpretation
Aluminum	0.296	0.210	0.402	Poor
Arsenic	0.539	0.446	0.636	Poor to moderate
Barium	0.411	0.318	0.517	Poor to moderate
Cadmium	0.454	0.360	0.558	Poor to moderate
Chromium	0.361	0.270	0.468	Poor
Cobalt	0.722	0.648	0.792	Moderate to good
Copper	0.401	0.308	0.507	Poor to moderate
Gallium	0.443	0.349	0.547	Poor to moderate
Iron	0.288	0.202	0.393	Poor
Lead	0.364	0.273	0.471	Poor
Lithium	0.352	0.262	0.459	Poor
Manganese	0.683	0.603	0.760	Moderate to good
Nickel	0.484	0.390	0.587	Poor to moderate
Selenium	0.398	0.305	0.504	Poor to moderate
Strontium	0.289	0.203	0.394	Poor
Thallium	0.457	0.363	0.561	Poor to moderate
Vanadium	0.519	0.426	0.618	Poor to moderate
Zinc	0.670	0.588	0.750	Moderate

IC95 = 95% confidence interval

3.5. Discussion

In our EXPERIVA study, we assessed gestational exposure to trace elements in an area of hydraulic fracturing activity through repeated urinary measurements. Our results indicated that pregnant women participating in the study have higher urinary levels of many trace elements when compared to data from reference populations of North American women. Moreover, we observed that self-identified Indigenous participants presented statistically significantly higher urinary levels of manganese compared to non-Indigenous participants. Using repeated measurements, we also observed poor to moderate reliability of spot samples, highlighting the importance of collecting multiple samples to better assess average exposure to few trace elements.

Comparison with reference values

We calculated and compared the 50th and 95th percentiles with those from reference female populations from the Canadian Health Measure Survey (CHMS) and the US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). We found that 28-100% of our participants (n=85) had urinary levels of barium, cobalt, copper, manganese, selenium, strontium and vanadium exceeding the 95th percentile of urinary levels in reference populations of North American women at least once during sample collection. The collection of repeated urine samples may have allowed us to better detect peak exposures, which may have led to an increased exceedance rate than if we had collected only spot samples. However, results for barium, manganese and strontium were consistent with our pilot study from the same region three years earlier, where we observed that pregnant women (n=29) presented higher levels in pools of five urinary samples than reference populations (32).

Particular exposure of Indigenous women

We observed that median urinary levels were significantly higher for Indigenous participants for manganese and higher, but not statistically different for barium, cobalt, copper, gallium and zinc. In our pilot study, higher hair concentrations of barium, aluminum, strontium, manganese and gallium were observed in Indigenous participants compared to non-Indigenous participants (32).

Although this comparison is made difficult because of the difference between biological matrices, we observed the same trend of an increased exposure of Indigenous women to barium, gallium and manganese.

Potential sources and pathways of exposure

The geochemistry of the rock formations exploited is decisive for the composition of the wastewater produced by the hydraulic fracturing process. The Montney Formation rock contains relatively high levels of metals like aluminum, barium, manganese and iron (45). Among the possible exposure sources, the consumption of drinking water contaminated by toxicants contained in wastewater (e.g., metals, VOCs) remains plausible since several studies revealed possible pathways of contamination between wastewater and aquifers. (46–53).

To better understand the sources and the pathways leading to this higher exposure, environmental monitoring (e.g., drinking water) of trace elements will be the subject of a future work.

Intraclass Correlation Coefficient

Our ICC estimates ranged between 0.288 and 0.722, and of the 18 trace elements analyzed, six were considered as poor reliability, nine as poor to moderate, one as moderate and two as moderate to good.

Studies have already measured short-term variability (days apart) using ICC calculation from creatinine-corrected urine concentrations for arsenic, cadmium, chromium, cobalt, copper, iron, manganese, nickel and zinc (**Table 4**). Globally, when compared with our results we observed a similar range of ICC in those studies presenting poor reliability ($ICC \leq 0.500$) for aluminum, barium, chromium, iron, selenium, thallium and copper and poor to moderate reliability ($0.500 \leq ICC \leq 0.750$) for arsenic, cadmium, cobalt, manganese, nickel and zinc.

Following the conclusions of *Perrier et al.*, 15 of our 18 trace elements, which have an ICC less than 0.6, should be measured through, at least, 6 samples to adequately reflect an average exposure (37).

Strengths and limitations

Following our pilot study, the present work is the first to describe gestational exposure of women (n=85) living near hydraulic fracturing operations to trace elements. These exposure data can be used as a basis for biomonitoring and epidemiological studies and integrated in models to better understand biological effects. Moreover, ICC data can help researchers to develop more efficient sampling strategies to get representative exposure estimates.

Our study has few limitations, especially regarding the lack of reference values from North American populations for aluminum, chromium, gallium, iron, and lithium, which prevents data comparison for those trace elements. Urinary reference values used to compare our biomonitoring data came from relatively old cohorts of unpregnant women from the CHMS (2009-2011) and NHANES (2015-2016). Moreover, pregnancy dietary supplements commonly contain essential elements like selenium that may interfere with the results and was not evaluated in the questionnaire. Concerning ICC calculations, our homogenous population, composed by pregnant women living in the same region may not reflect the between-person variability of the general population. Hence, ICC values presented in this work should be used with caution.

Table 4: comparison with published ICC (calculated from creatinine-corrected urine concentrations)

Reference Trace element	EXPERIVA study (85 women)	Wang et al. 2016 (39) (11 men)	Wang et al. 2019 (41) (11 men)	Smolders et al. 2014 (38) (4 women, 4 men)	Chen et al. 2019 (42) (11 men)
Aluminum	0.296	-	0.370	-	-
Arsenic	0.539	0.410	-	0.205	-
Barium	0.411	-	0.280	-	-
Cadmium	0.454	0.640	-	0.750	-
Chromium	0.361	-	-	-	0.018
Cobalt	0.722	0.410	-	-	-
Copper	0.401	0.180	-	-	-
Iron	0.288	-	-	-	0.320
Manganese	0.683	-	-	0.278	0.350
Nickel	0.484	0.120	-	0.678	-
Selenium	0.398	-	-	-	0.160
Thallium	0.457	-	0.500	-	-
Zinc	0.670	-	-	-	0.710

3.6. Conclusion

In the present study, we observed that pregnant women living in the Peace River Valley, a region of intensive activity of hydraulic fracturing, have higher urinary concentrations of certain trace elements like barium, cobalt, copper, manganese, selenium, strontium, and vanadium than reference populations. Those natural contaminants, commonly found in hydraulic fracturing wastewaters, are likely to contaminate surrounding aquifers and reach drinking water. Moreover, Indigenous participants were more exposed to certain trace elements compared to non-Indigenous participants. Finally, we observed that a single spot urine sample could be insufficient to adequately reflect an average exposure to certain trace elements, suggesting the necessity to consider variability and to adjust the study design according to substances of interest.

3.7. Acknowledgements

This research was conducted in Treaty 8, the traditional territory of the Cree, Saulteau and Dunne-Za people. This research project was funded through a Project Grant from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) (Application ID 390320) awarded to Marc-André Verner and Élyse Caron-Beaudoin. At the time of the EXPERIVA study recruitment, Élyse Caron-Beaudoin was supported through a CIHR postdoctoral fellowship (Funding Reference Number 159262). Marc-André Verner is the recipient of a Research Scholar J2 Award from the Fonds de recherche du Québec – Santé (FRQS). We want to thank the participants, as well as the Treaty 8 Tribal Association, the Saulteau First Nations and the West Moberly First Nations for their support and welcoming. The research team would also like to thank the participants and the staff from the medical and midwifery clinics for their assistance during the recruitment.

3.8. References

1. BC Oil and Gas Commission. British Columbia's Oil and Gas Reserves and Production Report 2019. 2020 Nov.
2. National Energy Board, BC Oil and Gas Commission, Alberta Energy Regulator, Ministry of Natural Gas Development. Energy briefing note - The ultimate potential for unconventional petroleum from the Montney Formation of British Columbia and Alberta. 2013 Nov. Report No.: ISSN 1917-506X.
3. BC Oil and Gas Commission. British Columbia's Oil and Gas Reserves and Production Report 2018. 2020 Jan.
4. Adams C, Janicki E, Balogun A. (2016): Summary of shale gas activity in Northeast British Columbia 2013; in Oil and Gas Reports 2016, British Columbia Ministry of Natural Gas Development, pages 1-39.
5. Chittick EA, Srebotnjak T. An analysis of chemicals and other constituents found in produced water from hydraulically fractured wells in California and the challenges for wastewater management. *J Environ Manage.* 2017 Dec 15;204(Pt 1):502–9.
6. Lester Y, Ferrer I, Thurman EM, Sitterley KA, Korak JA, Aiken G, et al. Characterization of hydraulic fracturing flowback water in Colorado: implications for water treatment. *Sci Total Environ.* 2015 Apr 15;512–513:637–44.
7. Sun Y, Wang D, Tsang DCW, Wang L, Ok YS, Feng Y. A critical review of risks, characteristics, and treatment strategies for potentially toxic elements in wastewater from shale gas extraction. *Environ Int.* 2019 Apr 1;125:452–69.
8. Pichtel J. Oil and Gas Production Wastewater: Soil Contamination and Pollution Prevention. *Appl Environ Soil Sci.* 2016;2016(Article ID 2707989):24 pages.
9. Vengosh A, Kondash A, Harkness J, Lauer N, Warner N, Darrah TH. The Geochemistry of Hydraulic Fracturing Fluids. *Procedia Earth Planet Sci.* 2017 Jan 1;17:21–4.

10. Ferrer I, Thurman EM. Chemical constituents and analytical approaches for hydraulic fracturing waters. *Trends Environ Anal Chem*. 2015 Feb 1; 18-25.
11. U.S. Environmental Protection Agency. U.S. EPA. Hydraulic Fracturing for Oil and Gas: Impacts from the Hydraulic Fracturing Water Cycle on Drinking Water Resources in the United States (Final Report). Washington, DC; 2016. Report No.: EPA/600/R-16/236F.
12. Council of Canadian Academies. Environmental Impacts of Shale Gas Extraction in Canada. Ottawa (ON): The Expert Panel on Harnessing Science and Technology to Understand the Environmental Impacts of Shale Gas Extraction; 2014.
13. Vengosh A, Jackson RB, Warner N, Darrah TH, Kondash A. A Critical Review of the Risks to Water Resources from Unconventional Shale Gas Development and Hydraulic Fracturing in the United States. *Environ Sci Technol*. 2014 Aug 5;48(15):8334–48.
14. Wisen J, Chesnaux R, Werring J, Wendling G, Baudron P, Barbecot F. A portrait of wellbore leakage in northeastern British Columbia, Canada. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Jan 14;117(2):913–22.
15. Cozzarelli IM, Kent DB, Briggs M, Engle MA, Benthem A, Skalak KJ, et al. Geochemical and geophysical indicators of oil and gas wastewater can trace potential exposure pathways following releases to surface waters. *Sci Total Environ*. 2021 Feb 10;755:142909.
16. GWSolutions. Peace river regional district water quality database and analysis. Nanaimo, BC: Coming Clean; 2016.
17. Bamber AM, Hasanali SH, Nair AS, Watkins SM, Vigil DI, Van Dyke M, et al. A Systematic Review of the Epidemiologic Literature Assessing Health Outcomes in Populations Living near Oil and Natural Gas Operations: Study Quality and Future Recommendations. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Jun 15;16(12).
18. Deziel NC, Brokovich E, Grotto I, Clark CJ, Barnett-Itzhaki Z, Broday D, et al. Unconventional oil and gas development and health outcomes: A scoping review of the epidemiological research. *Environ Res*. 2020 Mar 1;182:109124.

19. Hill EL. Shale gas development and infant health: Evidence from Pennsylvania. *J Health Econ*. 2018 Sep 1;61:134–50.
20. Currie J, Greenstone M, Meckel K. Hydraulic fracturing and infant health: New evidence from Pennsylvania. *Sci Adv*. 2017 Dec 1;3(12):e1603021.
21. Stacy SL, Brink LL, Larkin JC, Sadovsky Y, Goldstein BD, Pitt BR, et al. Perinatal Outcomes and Unconventional Natural Gas Operations in Southwest Pennsylvania. *PLOS ONE*. 2015 Jun 3;10(6):e0126425.
22. Casey JA, Savitz DA, Rasmussen SG, Ogburn EL, Pollak J, Mercer DG, et al. Unconventional Natural Gas Development and Birth Outcomes in Pennsylvania, USA. *Epidemiol Camb Mass*. 2016 Mar;27(2):163–72.
23. Whitworth KW, Marshall AK, Symanski E. Maternal residential proximity to unconventional gas development and perinatal outcomes among a diverse urban population in Texas. *PLoS ONE*. 2017 Jul 21;12(7):e0180966.
24. Caron-Beaudoin É, Whitworth KW, Bosson-Rieutort D, Wendling G, Liu S, Verner M-A. Density and proximity to hydraulic fracturing wells and birth outcomes in Northeastern British Columbia, Canada. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2021 Feb;31(1):53–61.
25. McKenzie LM, Allshouse W, Daniels S. Congenital heart defects and intensity of oil and gas well site activities in early pregnancy. *Environ Int*. 2019 Nov;132:104949.
26. McKenzie LM, Guo R, Witter RZ, Savitz DA, Newman LS, Adgate JL. Birth outcomes and maternal residential proximity to natural gas development in rural Colorado. *Environ Health Perspect*. 2014 Apr;122(4):412–7.
27. Janitz AE, Dao HD, Campbell JE, Stoner JA, Peck JD. The association between natural gas well activity and specific congenital anomalies in Oklahoma, 1997-2009. *Environ Int*. 2019 Jan;122:381–8.

28. Caserta D, Graziano A, Lo Monte G, Bordi G, Moscarini M. Heavy metals and placental fetal-maternal barrier: a mini-review on the major concerns. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013 Aug;17(16):2198–206.
29. Skogheim TS, Weyde KVF, Engel SM, Aase H, Surén P, Øie MG, et al. Metal and essential element concentrations during pregnancy and associations with autism spectrum disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder in children. *Environ Int*. 2021;152:106468.
30. Hu J, Xia W, Pan X, Zheng T, Zhang B, Zhou A, et al. Association of adverse birth outcomes with prenatal exposure to vanadium: a population-based cohort study. *Lancet Planet Health*. 2017 Sep;1(6):e230–41.
31. Zhao H, Tang J, Zhu Q, He H, Li S, Jin L, et al. Associations of prenatal heavy metals exposure with placental characteristics and birth weight in Hangzhou Birth Cohort: Multi-pollutant models based on elastic net regression. *Sci Total Environ*. 2020 Nov 10;742:140613.
32. Caron-Beaudoin É, Bouchard M, Wendling G, Barroso A, Bouchard MF, Ayotte P, et al. Urinary and hair concentrations of trace metals in pregnant women from Northeastern British Columbia, Canada: a pilot study. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2019 Sep;29(5):613–23.
33. Caron-Beaudoin É, Valter N, Chevrier J, Ayotte P, Frohlich K, Verner M-A. Gestational exposure to volatile organic compounds (VOCs) in Northeastern British Columbia, Canada: A pilot study. *Environ Int*. 2018 Jan;110:131–8.
34. Health Canada. Second report on human biomonitoring of environmental chemicals in Canada: results of the Canadian Health Measures Survey Cycle 2 (2009-2011). Ottawa, Canada; 2012.
35. Centers for disease control and prevention. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Updated Tables, January 2019, Volume One. 2019.
36. Calafat AM. Contemporary Issues in Exposure Assessment Using Biomonitoring. *Curr Epidemiol Rep*. 2016 Jun;3(2):145–53.

37. Perrier F, Giorgis-Allemand L, Slama R, Philippat C. Within-subject Pooling of Biological Samples to Reduce Exposure Misclassification in Biomarker-based Studies. *Epidemiol Camb Mass*. 2016 May;27(3):378–88.
38. Smolders R, Koch HM, Moos RK, Cocker J, Jones K, Warren N, et al. Inter- and intra-individual variation in urinary biomarker concentrations over a 6-day sampling period. Part 1: metals. *Toxicol Lett*. 2014 Dec 1;231(2):249–60.
39. Wang Y-X, Feng W, Zeng Q, Sun Y, Wang P, You L, et al. Variability of Metal Levels in Spot, First Morning, and 24-Hour Urine Samples over a 3-Month Period in Healthy Adult Chinese Men. *Environ Health Perspect*. 2016 Apr;124(4):468–76.
40. Gunier RB, Horn-Ross PL, Canchola AJ, Duffy CN, Reynolds P, Hertz A, et al. Determinants and within-person variability of urinary cadmium concentrations among women in northern California. *Environ Health Perspect*. 2013 Jun;121(6):643–9.
41. Wang Y-X, Pan A, Feng W, Liu C, Huang L-L, Ai S-H, et al. Variability and exposure classification of urinary levels of non-essential metals aluminum, antimony, barium, thallium, tungsten and uranium in healthy adult men. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2019 Apr;29(3):424–34.
42. Chen H-G, Chen Y-J, Chen C, Tu Z-Z, Lu Q, Wu P, et al. Reproducibility of essential elements chromium, manganese, iron, zinc and selenium in spot samples, first-morning voids and 24-h collections from healthy adult men. *Br J Nutr*. 2019 Aug 14;122(3):343–51.
43. Liljequist D, Elfving B, Skavberg Roaldsen K. Intraclass correlation – A discussion and demonstration of basic features. *PLoS ONE*. 2019 Jul 22;14(7):e0219854.
44. Koo TK, Li MY. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med*. 2016;15(2):155–63.
45. Egbobawaye EI. Whole-Rock Geochemistry and Mineralogy of Triassic Montney Formation, Northeastern British Columbia, Western Canada Sedimentary Basin. *Int J Geosci*. 2016;07(01):91.

46. Wisen J, Chesnaux R, Wendling G, Werring J, Barbecot F, Baudron P. Assessing the potential of cross-contamination from oil and gas hydraulic fracturing: A case study in northeastern British Columbia, Canada. *J Environ Manage*. 2019 Sep 15;246:275–82.
47. DiGiulio DC, Jackson RB. Impact to Underground Sources of Drinking Water and Domestic Wells from Production Well Stimulation and Completion Practices in the Pavillion, Wyoming, Field. *Environ Sci Technol*. 2016 Apr 19;50(8):4524–36.
48. Shrestha N, Chilkoor G, Wilder J, Gadhamshetty V, Stone JJ. Potential water resource impacts of hydraulic fracturing from unconventional oil production in the Bakken shale. *Water Res*. 2017;108:1–24.
49. Fontenot BE, Hunt LR, Hildenbrand ZL, Carlton Jr. DD, Oka H, Walton JL, et al. An Evaluation of Water Quality in Private Drinking Water Wells Near Natural Gas Extraction Sites in the Barnett Shale Formation. *Environ Sci Technol*. 2013 Sep 3;47(17):10032–40.
50. Alawattegama SK, Kondratyuk T, Krynock R, Bricker M, Rutter JK, Bain DJ, et al. Well water contamination in a rural community in southwestern Pennsylvania near unconventional shale gas extraction. *J Environ Sci Health Part A Tox Hazard Subst Environ Eng*. 2015;50(5):516–28.
51. DiGiulio DC, Wilkin RT, Miller C, Oberley G. Draft investigation of ground water contamination near Pavillion, Wyoming. Ada, Oklahoma: U.S. Environmental Protection Agency; 2011.
52. Rozell DJ, Reaven SJ. Water Pollution Risk Associated with Natural Gas Extraction from the Marcellus Shale. *Risk Anal*. 2012;32(8):1382–93.
53. Vidic RD, Brantley SL, Vandenbossche JM, Yoxtheimer D, Abad JD. Impact of shale gas development on regional water quality. *Science*. 2013 May 17;340(6134):1235009.

3.9. Supplemental material

Table S1 - Urinary trace elements concentrations unadjusted (ng/mL): EXPERIVA study VS reference populations

Trace elements	Detection frequency (% of all samples)	EXPERIVA study		CHMS 2nd cycle (women 20-39 years old)		NHANES 9th cycle (women 6-79 years old)	
		Median	95th percentile	Median	95th percentile	Median	95th percentile
Aluminum	98	5.61	14.52	NA	NA	NA	NA
Arsenic	100	4.79	42.09	7.40	73.00	5.07	43.00
Barium	98	2.22	11.16	NA	NA	1.04	4.99
Cadmium	98	0.09	0.29	0.37	1.10	0.14	1.07
Chromium	99	0.20	0.56	NA	NA	NA	NA
Cobalt	100	0.71	3.17	0.33	1.20	0.43	1.82
Copper	100	7.17	21.21	12.00	27.00	NA	NA
Gallium	97	0.13	0.50	NA	NA	NA	NA
Iron	100	4.88	14.60	NA	NA	NA	NA
Lead	94	0.15	0.70	0.40	1.70	0.26	1.26
Lithium	100	24.85	76.08	NA	NA	NA	NA
Manganese	70	0.12	0.61	< 0.20	0.34	< 0.13	0.35
Nickel	100	1.03	3.81	1.30	5.30	NA	NA
Selenium	100	47.30	147.21	53.00	140.00	NA	NA
Strontium	100	155.35	417.71	NA	NA	86.50	283.00
Thallium	99	0.16	0.42	0.24	0.62	0.15	0.43
Vanadium	96	0.15	0.48	< 0.10	< 0.10	NA	NA
Zinc	100	154.81	673.73	280.00	870.00	NA	NA

Table S2 - Limits of detection (LOD) and ranges of detection in EXPERIVA for each trace-element

Trace elements	Limit of detection (ng/mL)	Range of concentrations (ng/mL of urine)	Range of concentrations (µg/g of creatinine)
Aluminum	1.45	< LOD - 65.44	< LOD - 531.05
Arsenic	0.057	0.29 - 1525.73	0.16 - 893.23
Barium	0.021	0.03 - 42.71	< LOD - 173.19
Cadmium	0.022	< LOD - 0.71	< LOD - 0.98
Chromium	0.044	< LOD - 66.04	< LOD - 137.37
Cobalt	0.018	0.04 - 6.81	0.14 - 6.77
Copper	0.048	0.91 - 251.76	0.45 - 452.88
Gallium	0.022	< LOD - 1.82	< LOD - 7.38
Iron	0.278	1.15 - 272.13	0.38 - 566.04
Lead	0.017	< LOD - 2.44	< LOD - 3.05
Lithium	0.773	2.17 - 207.68	1.00 - 223.95
Manganese	0.032	< LOD - 6.98	< LOD - 14.52
Nickel	0.024	0.11 - 36.03	0.11 - 142.83
Selenium	0.517	2.97 - 418.35	1.06 - 564.61
Strontium	0.390	13.17 - 912.51	5.24 - 943.95
Thallium	0.026	< LOD - 0.87	< LOD - 1.37
Vanadium	0.013	< LOD - 0.98	< LOD - 1.36
Zinc	0.955	4.13 - 1427.67	9.76 - 1554.62

4. Discussion générale

Notre équipe de recherche est la première à avoir publié des données de mesure de l'exposition gestationnelle à des éléments-traces dans un contexte de proximité d'activités de fracturation hydraulique et avoir mis en évidence une surexposition de ces participantes à plusieurs substances (baryum, cobalt, cuivre, manganèse, sélénium, strontium, vanadium). Ces données de biosurveillance constituent un point de départ et un outil essentiel à l'évaluation des risques en lien avec cette activité d'exploitation d'énergies fossiles.

En parallèle de ces mesures, notre étude a également su démontrer l'importance de considérer la notion de variabilité intra-individuelle au cours du développement de la stratégie d'échantillonnage inhérente à un projet de biosurveillance.

Cependant, afin de pouvoir interpréter ces résultats et établir un véritable lien entre nos observations et la proximité des activités de fracturation hydraulique, il est nécessaire de mieux cerner les processus d'exposition en enquêtant sur les sources et voies d'exposition.

4.1 Données de biosurveillance

4.1.1. Retour sur les résultats

Dans le présent travail, nous avons montré que les concentrations urinaires chez les 85 femmes enceintes de notre cohorte pouvaient être supérieures à ceux de femmes issues de la population générale pour plusieurs éléments-traces. Lorsque nous comparons ces données, obtenues en 2019, à celles issues de l'étude pilote réalisée dans la même région en 2016, nous observons la même tendance pour le baryum, le manganèse, le strontium et le vanadium qui sont des éléments-traces communément reliés aux activités de fracturation hydraulique. Dans ces deux cohortes, l'eau du robinet constituant la principale source d'eau de consommation (étude pilote : ~70% et EXPERIVA : ~60%), cette observation nous permet d'émettre l'hypothèse d'une présence excessive et redondante de ces éléments-traces dans l'eau potable de la région. Cette hypothèse peut être appuyée par les conclusions de l'étude rétrospective sur la qualité des eaux de la région menée par la société GWSolutions qui a mis en évidence une augmentation de la salinité et des

taux anormalement élevés d'éléments-traces dans des eaux de la région (27) à partir du début des années 2000, au moment de l'essor de l'utilisation de la fracturation hydraulique dans la région.

En convergence avec notre étude pilote, il apparaît dans la présente étude que les participantes d'origine autochtone présentent des concentrations urinaires plus élevées que les participantes non autochtones pour le baryum, le gallium et le manganèse. L'étude pilote avait révélé des concentrations significativement supérieures dans les cheveux des femmes d'origine autochtone pour le baryum, le strontium et le gallium (56). Il est à noter que l'utilisation de cheveux comme matrice biologique dans l'étude pilote a permis de refléter une exposition cumulée sur plusieurs mois tandis que l'urine, utilisée dans la présente étude, est susceptible de refléter une exposition à plus court terme. Une différence dans les habitudes de consommation en eau a été relevée. En effet, ~40% des participantes d'origine autochtone ont déclaré consommer de l'eau du robinet contre ~60% des participantes non-autochtones pouvant expliquer une différence d'exposition aux éléments-traces. De plus, en comparant nos résultats avec ceux issus d'études portant sur la biosurveillance des Premières Nations publiés par *Ratelle et coll.* (62) et par la First Nations Assembly (First Nations Biomonitoring Initiative) (63), nous observons la même tendance à une exposition plus élevée à des éléments-traces tels que le manganèse, le cuivre et le cobalt qui sont des éléments essentiels retrouvés dans l'alimentation traditionnelle.

4.1.2. Sources d'exposition et lien de causalité

Afin de répondre à l'hypothèse d'une altération de la qualité des eaux de boisson associée à la proximité d'activités de fracturation hydraulique il est nécessaire d'étudier les liens de causalité en éclaircissant le schéma d'exposition (voies et sources d'exposition). Pour ce faire, en parallèle des prélèvements biologiques, notre équipe de recherche a effectué des prélèvements environnementaux (eau du robinet) dans lesquels les 20 éléments-traces ont récemment été mesurés afin de tester les corrélations entre les niveaux biologiques et environnementaux entre matrices.

Il est possible de mesurer des marqueurs spécifiques permettant de tracer l'origine des éléments mesurés. Plusieurs études ont montré la spécificité de la composition géochimique et isotopique des eaux de production issues des activités de fracturation hydraulique en fonction des différentes formations rocheuses (64,65). En étant mesurés dans les matrices environnementales et/ou biologiques, ces marqueurs isotopiques pourront être utilisés comme traceurs afin de mieux comprendre le chemin de contamination eaux de production/aquifères naturels et, ultimement, mieux cerner le schéma d'exposition des individus.

En outre, les résultats de notre étude ont montré que ~40% des participantes consommaient de l'eau embouteillée suggérant que d'autres sources d'exposition aux métaux que l'eau du robinet sont à explorer comme l'alimentation. Les poissons vivant dans des cours d'eau potentiellement contaminés et les végétaux cultivés dans des sols à proximité de ces activités industrielles pourraient être des réservoirs de contaminants tels que les métaux et potentiellement constituer des sources d'exposition pour les consommateurs locaux. Particulièrement, les populations des Premières Nations qui consomment régulièrement des aliments traditionnels connus comme étant des sources d'exposition à des métaux lourds et/ou des éléments-traces essentiels (poissons, gibiers) pourraient être concernées par ce type de pollution. Concernant l'impact sur la santé de ces populations, une récente étude menée au Canada a permis d'évaluer les liens entre exposition à des contaminants environnementaux, consommation de denrées traditionnelles et statut nutritionnel et a mis en évidence une balance bénéfice-risque favorable à une alimentation traditionnelle notamment grâce à son apport en éléments et acides gras essentiels (62).

4.1.3. Apport scientifique de nos résultats

Dans un contexte de suivi épidémiologique, les données de biosurveillance issues du présent travail pourront servir de base de données ainsi que de valeurs de référence pour le suivi de l'évolution de l'exposition populationnelle de la région de la formation de Montney et être utilisées dans de futures études épidémiologiques.

Sur l'axe de la toxicologie et de l'étude des effets sur le développement, ces données pourront être intégrées à des modèles *in silico* afin d'extrapoler la dose interne reçue par le fœtus à partir

de la dose interne mesurée chez la mère dans les échantillons biologiques. Le potentiel de perturbation endocrinienne de ces contaminants aux doses relevées pourra alors être évalué à partir de tests *in vitro*.

4.1.4. Limitations et réflexions

Une des problématiques en santé environnementale est l'exposition à faible dose tout au long de la vie de l'individu à divers contaminants environnementaux. Historiquement, la recherche en santé environnementale était limitée par des contraintes analytiques qualitatives et quantitatives. Les avancées technologiques permettent dorénavant de détecter une grande variété de contaminants présents en très faibles quantités dans les matrices notamment biologiques. Cette (r)évolution a ouvert la voie à l'exploitation de données de biosurveillance humaine obtenues sur de larges populations entraînant des adaptations dans les stratégies d'échantillonnage afin de rendre financièrement et logistiquement possible la mise en œuvre de ces projets. Parmi ces adaptations, l'utilisation de méthodes d'échantillonnage non-invasives (e.g. prélèvements d'urine ou de phanères) mieux acceptées éthiquement parlant et ne nécessitant pas de compétences particulières de prélèvement (51).

Dans la présente étude, nous avons souhaité évaluer la variabilité individuelle dans les concentrations en éléments-traces. Requérant un échantillonnage répété sur 7 jours cet objectif rendait inadéquate l'utilisation de la matrice sanguine, dont le prélèvement invasif à répétition aurait pu constituer un désagrément pour les participantes, qui de surcroît, étant enceintes constituaient une population vulnérable. La matrice urinaire a donc été sélectionnée pour ces raisons éthiques mais aussi pour les faibles contraintes techniques et logistiques inhérentes à une auto-collecte. Néanmoins, pour plusieurs éléments-traces, une quantification dans des échantillons urinaires n'est pas toujours adéquate. Par exemple, le fer qui se lie naturellement à l'hémoglobine et dont la mesure se fait généralement à travers l'analyse de la ferritine sérique ou encore le cobalt qui entre dans la composition de la cobalamine (ou vitamine B12) (45) font de la matrice sanguine le compartiment de prédilection pour ces éléments.

De plus, afin de tenir compte de l'excrétion urinaire propre à chaque individu, chaque concentration en éléments-traces a été pondérée par la mesure urinaire de la créatinine. Bien

que permettant théoriquement de se rapprocher d'une valeur « réelle » d'exposition, cette stratégie de pondération peut pâtir d'un manque de spécificité lié à la méthode analytique en elle-même. En effet, plusieurs substances retrouvées dans l'organisme (p. ex. antibiotiques, bilirubine) sont capables d'interférer avec la réaction colorimétrique et, selon la molécule, altérer ou augmenter le signal (66,67).

La biodisponibilité des éléments-traces peut varier en fonction du stade de la vie. La grossesse et l'accouchement peuvent avoir un impact sur les teneurs biologiques en cobalt et en cuivre qui augmentent pendant la grossesse et diminuent après l'accouchement indiquant l'importance de préciser la période de la grossesse lors de l'interprétation des données de biosurveillance (68). À l'inverse, les concentrations circulantes d'autres éléments essentiels requis pour le développement fœtal, tels que le zinc ou le sélénium, peuvent diminuer pendant la grossesse (46) pouvant impacter les mesures effectuées dans le cadre de la biosurveillance de populations de femmes enceintes.

L'âge semble également être un facteur impactant la biodisponibilité des éléments-traces. En effet, il semblerait que l'absorption intestinale de ces éléments diminue avec l'âge, induisant une diminution des concentrations biologiques en éléments-traces et augmentant les besoins nutritionnels en éléments essentiels (46). Ce point souligne qu'il est souhaitable d'utiliser des données de référence issues de populations d'une même tranche d'âge lorsque cela est possible, or, pour des raisons de disponibilité, nous avons utilisé dans notre étude des valeurs de référence obtenues chez des femmes âgées de 6 à 79 ans (NHANES).

L'homéostasie et l'interaction des éléments-traces essentiels sont aussi des facteurs importants pouvant expliquer des variations biologiques. Un excès de cadmium peut empêcher l'absorption de zinc (46) tandis qu'un régime trop riche en zinc peut causer une carence en cuivre (47).

Le contenu du questionnaire n'a pas permis de renseigner l'éventuelle prise de suppléments alimentaires pouvant contenir des éléments essentiels comme le Sélénium pouvant influencer les mesures d'exposition.

Les données présentées dans notre étude sont interprétées selon une approche de biosurveillance descriptive et non fondée sur le risque. Il demeure donc important de préciser

que les dépassements de valeurs issues des populations de référence observés ne peuvent pas être considérés, à ce stade, comme la preuve d'un risque à la santé supérieur pour la population à l'étude par rapport à celle de référence.

Néanmoins, les valeurs élevées d'exposition en éléments-traces rapportées dans la présente étude pourraient permettre de renforcer l'hypothèse de contamination des eaux claires par des eaux usées issues d'activités de fracturation hydraulique.

4.2. Données de variabilité

4.2.1. Retour sur les résultats

Notre étude est la première à avoir mesuré la variabilité intra-individuelle et inter-individuelle inhérente à des analyses d'éléments-traces urinaires chez des femmes enceintes. Elle a permis de mettre en évidence l'inadéquation de l'échantillonnage unique, stratégie la plus couramment utilisée dans les études de biosurveillance, dans l'évaluation d'une exposition moyenne à des éléments-traces. Globalement, lorsque nous comparons nos résultats de CCI à de précédents travaux, la même tendance est observée, à savoir la nécessité d'intégrer des données de variabilité au moment de choisir une stratégie d'échantillonnage.

4.2.2. Futures applications

Les estimations de CCI présentées dans ce document constituent des outils statistiquement plus robustes que les données de demi-vie habituellement utilisées dans l'élaboration des stratégies d'échantillonnage en biosurveillance (53). Elles permettront de contribuer au raffinement de l'évaluation de l'exposition et l'amélioration de la fiabilité de l'évaluation de risques subséquente.

Récemment, plusieurs outils intégrant des données de variabilité, telles que les CCI ou les valeurs de variabilité inter- et intra-individuelle, ont été développés dans le but de calculer le nombre d'échantillons adéquat pour l'évaluation d'une exposition moyenne en fonction de la substance et des individus concernés (69,70). Nos valeurs de CCI pourront donc être utilisées dans ce contexte afin d'améliorer en amont les stratégies d'échantillonnage dans les études de biosurveillance.

4.3. Perspectives

L'un des facteurs limitant dans l'évaluation des risques à la santé inhérents aux substances associées à la fracturation hydraulique est l'absence de valeurs de référence toxicologiques. Des chercheurs ont récemment mis au point un modèle utilisant la technologie QSAR (*Quantitative Structure Activity Relationship*) permettant d'extrapoler ces valeurs de référence (71), mais ces modèles ne s'appliquent généralement qu'aux molécules organiques. Des travaux restent donc à faire pour établir des valeurs guides, notamment en termes de d'équivalents de biosurveillance.

Une autre problématique majeure rencontrée en santé environnementale est le concept de l'effet mélange. En effet, les fluides de fracturation hydraulique sont composés par de nombreuses substances issues de familles chimiques diverses; or, il est maintenant reconnu que des interactions entre substances sont capables de favoriser leur potentiel toxique (« synergisme ») voire de rendre toxique des substances qui ne le sont pas lorsqu'elles sont retrouvées seules (« potentialisation »). L'étude des interactions entre éléments-traces/métaux lourds et/ou éléments-traces/autres substances composant les fluides injectés ou rejetés pourrait permettre de mieux comprendre l'impact sur la santé qu'ont certains contaminants associés aux activités de fracturation hydraulique.

5. Conclusion

En conclusion, cette étude a permis de mettre en évidence une exposition plus élevée, en comparaison à des valeurs de référence, à certains éléments-traces chez des femmes enceintes vivant à proximité d'exploitation gazière par fracturation hydraulique à travers des échantillons urinaires répétés. De plus, nous avons montré que dans ce contexte-là, un seul échantillon urinaire peut être insuffisant pour évaluer l'exposition moyenne individuelle pourtant considérée dans les études épidémiologiques.

Ces données de biosurveillance pourront servir de base pour le suivi d'exposition de cette population et de futures études épidémiologiques. Les données inhérentes à la variabilité pourront aussi permettre d'améliorer la stratégie d'échantillonnage des études futures.

Références

1. International Energy Agency. World Energy Outlook 2019, IEA, Paris [Internet]. 2019. Disponible à: <https://www.iea.org/reports/world-energy-outlook-2019>
2. Speight JG. 1 - History and use. Dans: Speight JG, éditeur. Natural Gas (Second Edition) [Internet]. Boston: Gulf Professional Publishing; 2019 [cité 24 oct 2021]. p. 3-24. Disponible à: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128095706000011>
3. Ressources naturelles Canada. Cahier d'information sur l'énergie 2020-2021. 2020. Report No.: ISSN 2370-3113.
4. National Energy Board, BC Oil and Gas Commission, Alberta Energy Regulator, Ministry of Natural Gas Development. Energy briefing note - The ultimate potential for unconventional petroleum from the Montney Formation of British Columbia and Alberta. 2013 nov. Report No.: ISSN 1917-506X.
5. BC Oil and Gas Commission. British Columbia's Oil and Gas Reserves and Production Report 2019. 2020 nov.
6. Adams C, Janicki E, Balogun A. (2016): Summary of shale gas activity in Northeast British Columbia 2013; in Oil and Gas Reports 2016, British Columbia Ministry of Natural Gas Development, pages 1-39.
7. Smith MB, Montgomery C. Hydraulic Fracturing. Boca Raton: CRC Press; 2015. 812 p.
8. U.S. Environmental Protection Agency. U.S. EPA. Hydraulic Fracturing for Oil and Gas: Impacts from the Hydraulic Fracturing Water Cycle on Drinking Water Resources in the United States (Final Report). Washington, DC; 2016. Report No.: EPA/600/R-16/236F.
9. United States house of representatives - Committee on energy and commerce. Chemicals used in hydraulic fracturing. 2011.
10. U.S. Environmental Protection Agency. Analysis of Hydraulic Fracturing Fluid Data from the FracFocus Chemical Disclosure Registry 1.0. Washington, DC: Office of Research and Development; 2015. Report No.: EPA/601/R-14/003.
11. Council of Canadian Academies. Environmental Impacts of Shale Gas Extraction in Canada. Ottawa (ON): The Expert Panel on Harnessing Science and Technology to Understand the Environmental Impacts of Shale Gas Extraction; 2014.
12. Uddameri V, Morse A, Tindle KJ, éditeurs. Hydraulic fracturing impacts and technologies: a multidisciplinary perspective. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2016. 290 p.

13. Rivard C, Lavoie D, Lefebvre R, Séjourné S, Lamontagne C, Duchesne M. An overview of Canadian shale gas production and environmental concerns. *Int J Coal Geol.* 2014;126:64-76.
14. Osselin F, Saad S, Nightingale M, Hearn G, Desaulty AM, Gaucher EC, et al. Geochemical and sulfate isotopic evolution of flowback and produced waters reveals water-rock interactions following hydraulic fracturing of a tight hydrocarbon reservoir. *Sci Total Environ.* 15 oct 2019;687:1389-400.
15. He Y, Flynn SL, Folkerts EJ, Zhang Y, Ruan D, Alessi DS, et al. Chemical and toxicological characterizations of hydraulic fracturing flowback and produced water. *Water Res.* 1 mai 2017;114:78-87.
16. Lester Y, Ferrer I, Thurman EM, Sitterley KA, Korak JA, Aiken G, et al. Characterization of hydraulic fracturing flowback water in Colorado: implications for water treatment. *Sci Total Environ.* 15 avr 2015;512-513:637-44.
17. Chittick EA, Srebotnjak T. An analysis of chemicals and other constituents found in produced water from hydraulically fractured wells in California and the challenges for wastewater management. *J Environ Manage.* 15 déc 2017;204(Pt 1):502-9.
18. Wisen J, Chesnaux R, Werring J, Wendling G, Baudron P, Barbecot F. A portrait of wellbore leakage in northeastern British Columbia, Canada. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 14 janv 2020;117(2):913-22.
19. Shrestha N, Chilkoor G, Wilder J, Gadhamshetty V, Stone JJ. Potential water resource impacts of hydraulic fracturing from unconventional oil production in the Bakken shale. *Water Res.* 2017;108:1-24.
20. Vengosh A, Kondash A, Harkness J, Lauer N, Warner N, Darrah TH. The Geochemistry of Hydraulic Fracturing Fluids. *Procedia Earth Planet Sci.* 1 janv 2017;17:21-4.
21. Rozell DJ, Reaven SJ. Water Pollution Risk Associated with Natural Gas Extraction from the Marcellus Shale. *Risk Anal.* 2012;32(8):1382-93.
22. Vidic RD, Brantley SL, Vandenbossche JM, Yoxtheimer D, Abad JD. Impact of shale gas development on regional water quality. *Science.* 17 mai 2013;340(6134):1235009.
23. Bonetti P, Leuz C, Michelon G. Large-sample evidence on the impact of unconventional oil and gas development on surface waters. *Science.* 20 août 2021;373(6557):896-902.
24. Lauer NE, Harkness JS, Vengosh A. Brine Spills Associated with Unconventional Oil Development in North Dakota. *Environ Sci Technol.* 17 mai 2016;50(10):5389-97.
25. DiGiulio DC, Wilkin RT, Miller C, Oberley G. Draft investigation of ground water contamination near Pavillion, Wyoming. Ada, Oklahoma: U.S. Environmental Protection Agency; 2011. Report No.: EPA 600/R-00/000.

26. DiGiulio DC, Jackson RB. Impact to Underground Sources of Drinking Water and Domestic Wells from Production Well Stimulation and Completion Practices in the Pavillion, Wyoming, Field. *Environ Sci Technol*. 19 avr 2016;50(8):4524-36.
27. GWSolutions. Peace river regional district water quality database and analysis. Nanaimo, BC: Coming Clean; 2016.
28. Deziel NC, Brokovich E, Grotto I, Clark CJ, Barnett-Itzhaki Z, Broday D, et al. Unconventional oil and gas development and health outcomes: A scoping review of the epidemiological research. *Environ Res*. 1 mars 2020;182:109124.
29. Hill EL. Shale gas development and infant health: Evidence from Pennsylvania. *J Health Econ*. 1 sept 2018;61:134-50.
30. Currie J, Greenstone M, Meckel K. Hydraulic fracturing and infant health: New evidence from Pennsylvania. *Sci Adv*. 1 déc 2017;3(12):e1603021.
31. Stacy SL, Brink LL, Larkin JC, Sadovsky Y, Goldstein BD, Pitt BR, et al. Perinatal Outcomes and Unconventional Natural Gas Operations in Southwest Pennsylvania. *PLOS ONE*. 3 juin 2015;10(6):e0126425.
32. Casey JA, Savitz DA, Rasmussen SG, Ogburn EL, Pollak J, Mercer DG, et al. Unconventional Natural Gas Development and Birth Outcomes in Pennsylvania, USA. *Epidemiol Camb Mass*. mars 2016;27(2):163-72.
33. Whitworth KW, Marshall AK, Symanski E. Maternal residential proximity to unconventional gas development and perinatal outcomes among a diverse urban population in Texas. *PLoS ONE*. 21 juill 2017;12(7):e0180966.
34. Caron-Beaudoin É, Whitworth KW, Bosson-Rieutort D, Wendling G, Liu S, Verner MA. Density and proximity to hydraulic fracturing wells and birth outcomes in Northeastern British Columbia, Canada. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. févr 2021;31(1):53-61.
35. McKenzie LM, Guo R, Witter RZ, Savitz DA, Newman LS, Adgate JL. Birth outcomes and maternal residential proximity to natural gas development in rural Colorado. *Environ Health Perspect*. avr 2014;122(4):412-7.
36. McKenzie LM, Allshouse W, Daniels S. Congenital heart defects and intensity of oil and gas well site activities in early pregnancy. *Environ Int*. nov 2019;132:104949.
37. Janitz AE, Dao HD, Campbell JE, Stoner JA, Peck JD. The association between natural gas well activity and specific congenital anomalies in Oklahoma, 1997-2009. *Environ Int*. janv 2019;122:381-8.
38. Shonkoff SBC, Hays J, Finkel ML. Environmental Public Health Dimensions of Shale and Tight Gas Development. *Environ Health Perspect*. 2014;122(8):787-95.

39. Gorski I, Schwartz BS. Environmental Health Concerns From Unconventional Natural Gas Development [Internet]. Oxford Research Encyclopedia of Global Public Health. 2019 [cité 20 déc 2021]. Disponible à: <https://oxfordre.com/publichealth/view/10.1093/acrefore/9780190632366.001.0001/acrefore-9780190632366-e-44>
40. Yost EE, Stanek J, DeWoskin RS, Burgoon LD. Overview of Chronic Oral Toxicity Values for Chemicals Present in Hydraulic Fracturing Fluids, Flowback, and Produced Waters. *Environ Sci Technol*. 3 mai 2016;50(9):4788-97.
41. Colborn T, Kwiatkowski C, Schultz K, Bachran M. Natural Gas Operations from a Public Health Perspective. *Hum Ecol Risk Assess Int J*. 1 sept 2011;17(5):1039-56.
42. Kassotis CD, Vu DC, Vo PH, Lin CH, Cornelius-Green JN, Patton S, et al. Endocrine-Disrupting Activities and Organic Contaminants Associated with Oil and Gas Operations in Wyoming Groundwater. *Arch Environ Contam Toxicol*. août 2018;75(2):247-58.
43. Nagel SC, Kassotis CD, Vandenberg LN, Lawrence BP, Robert J, Balise VD. Developmental exposure to a mixture of unconventional oil and gas chemicals: A review of experimental effects on adult health, behavior, and disease. *Mol Cell Endocrinol*. 1 août 2020;513:110722.
44. Elliott EG, Ettinger AS, Leaderer BP, Bracken MB, Deziel NC. A systematic evaluation of chemicals in hydraulic-fracturing fluids and wastewater for reproductive and developmental toxicity. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. janv 2017;27(1):90-9.
45. Dedoussis GV. Impact of Lifestyle on Metal Exposure, Homeostasis, and Associated Diseases. Dans: Nriagu JO, Skaar EP, éditeurs. *Trace Metals and Infectious Diseases* [Internet]. Cambridge (MA): MIT Press; 2015 [cité 13 avr 2022]. Disponible à: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK569666/>
46. World Health Organization. *Trace elements in human nutrition and health*. Geneva; 1996.
47. Fraga CG. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol Aspects Med*. 1 août 2005;26(4):235-44.
48. Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc* [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US); 2001 [cité 18 avr 2022]. Disponible à: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK222310/>
49. Conor Reilly. *Metal Contamination of Food* [Internet]. 1^{re} éd. John Wiley & Sons, Ltd; 2002 [cité 9 avr 2022]. Disponible à: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470995105>
50. Astrid Sigel, Helmut Sigel, Roland K.O. Sigel. *Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases*. 1^{re} éd. Springer, Dordrecht; 2013.

51. Smolders R, Schramm KW, Nickmilder M, Schoeters G. Applicability of non-invasively collected matrices for human biomonitoring. *Environ Health*. 9 mars 2009;8:8.
52. Gurusankar R, Yenugadhati N, Krishnan K, Hays S, Haines D, Zidek A, et al. The role of human biological monitoring in health risk assessment. *Int J Risk Assess Manag*. 1 janv 2017;20(1-3):136-97.
53. Pleil JD, Sobus JR. Estimating lifetime risk from spot biomarker data and intraclass correlation coefficients (ICC). *J Toxicol Environ Health A*. 2013;76(12):747-66.
54. Pleil JD, Wallace MAG, Stiegel MA, Funk WE. Human biomarker interpretation: the importance of intra-class correlation coefficients (ICC) and their calculations based on mixed models, ANOVA, and variance estimates. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2018;21(3):161-80.
55. Crowe E, Patton S, Thomas D, Thorpe B. When the wind blows : tracking toxic chemicals in gas fields and impacted communities (Maddy Cobbing ed.). Brattleboro, Vt: Coming Clean; 2016.
56. Caron-Beaudoin É, Bouchard M, Wendling G, Barroso A, Bouchard MF, Ayotte P, et al. Urinary and hair concentrations of trace metals in pregnant women from Northeastern British Columbia, Canada: a pilot study. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. sept 2019;29(5):613-23.
57. Sexton K, L.Needham L, L.Pirkle J. Human Biomonitoring of Environmental Chemicals: Measuring chemicals in human tissues is the « gold standard » for assessing people's exposure to pollution. *Am Sci*. 2004;92(1):38-45.
58. Caserta D, Graziano A, Lo Monte G, Bordi G, Moscarini M. Heavy metals and placental fetal-maternal barrier: a mini-review on the major concerns. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. août 2013;17(16):2198-206.
59. Narayanan S, Appleton HD. Creatinine: a review. *Clin Chem*. 1 juill 1980;26(8):1119-26.
60. Liljequist D, Elfving B, Skavberg Roaldsen K. Intraclass correlation – A discussion and demonstration of basic features. *PLoS ONE*. 22 juill 2019;14(7):e0219854.
61. Koo TK, Li MY. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med*. 2016;15(2):155-63.
62. Ratelle M, Skinner K, Brandow D, Packull-McCormick S. Contaminant Bio-monitoring in the Northwest Territories Mackenzie Valley: Investigating the Links Between Contaminant Exposure, Nutritional Status, and Country Food Use. Waterloo (ON): University of Waterloo; 2019 janv.
63. Assembly of First Nations (AFN). First Nations Biomonitoring Initiative-National results (2011). 2013 juin.

64. Vengosh A, Warner NR, Kondash A, Harkness JS, Lauer N, Millot R, et al. Isotopic Fingerprints for Delineating the Environmental Effects of Hydraulic Fracturing Fluids. *Procedia Earth Planet Sci.* 1 janv 2015;13:244-7.
65. Tieman ZG, Stewart BW, Capo RC, Phan TT, Lopano CL, Hakala JA. Barium Isotopes Track the Source of Dissolved Solids in Produced Water from the Unconventional Marcellus Shale Gas Play. *Environ Sci Technol.* 7 avr 2020;54(7):4275-85.
66. Kahina Slimani, Fabien Mercier, Barbara Le Bot, Jean-Philippe Antignac, Emmanuelle Bichon, Arthur David, et al. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire.* juill 2020;383-9.
67. Syal K, Banerjee D, Srinivasan A. Creatinine Estimation and Interference. *Indian J Clin Biochem.* avr 2013;28(2):210-1.
68. Hansen S, Nieboer E, Sandanger TM, Wilsgaard T, Thomassen Y, Veyhe AS, et al. Changes in maternal blood concentrations of selected essential and toxic elements during and after pregnancy. *J Environ Monit JEM.* août 2011;13(8):2143-52.
69. Casas M, Basagaña X, Sakhi AK, Haug LS, Philippat C, Granum B, et al. Variability of urinary concentrations of non-persistent chemicals in pregnant women and school-aged children. *Environ Int.* déc 2018;121(Pt 1):561-73.
70. Verner MA, Salame H, Housand C, Birnbaum LS, Bouchard MF, Chevrier J, et al. How Many Urine Samples Are Needed to Accurately Assess Exposure to Non-Persistent Chemicals? The Biomarker Reliability Assessment Tool (BRAT) for Scientists, Research Sponsors, and Risk Managers. *Int J Environ Res Public Health.* 6 déc 2020;17(23):E9102.
71. Yost EE, Stanek J, DeWoskin RS, Burgoon LD. Estimating the Potential Toxicity of Chemicals Associated with Hydraulic Fracturing Operations Using Quantitative Structure–Activity Relationship Modeling. *Environ Sci Technol.* 19 juill 2016;50(14):7732-42.