

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Perturbateurs endocriniens

Synthèse et étude
des auditions

Rapport d'appui scientifique et technique

Mars 2013

Édition scientifique



anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Perturbateurs endocriniens

Synthèse et étude
des auditions

Rapport d'appui scientifique et technique

Mars 2013

Édition scientifique

Perturbateurs Endocriniens

Synthèse et étude des auditions,

Contribution à la saisine n°2009-SA-0331 : « Expertise sur les risques sanitaires pour le consommateur liés à des substances reprotoxiques et/ou perturbateurs endocriniens présents dans des produits et/ou articles mis sur le marché »

RAPPORT d'appui scientifique et technique

Groupe de Travail « Perturbateurs endocriniens et reprotoxiques de catégorie 3 »

Mars 2013

Mots clés

Perturbateurs endocriniens, incertitudes, parties prenantes, auditions, analyse qualitative, sciences sociales.

Présentation des intervenants

PREAMBULE : Les experts externes, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GRUPE DE TRAVAIL « PERTURBATEURS ENDOCRINIENS ET REPROTOXIQUES DE CATEGORIES 3 »

Président

M. Claude EMOND – Université de Montréal, Canada

Vice-président

M. Luc BELZUNCES – Directeur de Recherche - Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 A&E, INRA

Membres

M. Jean-Philippe ANTIGNAC - Ingénieur analyste - ONIRIS, LABERCA

M. Brice APPENZELLER - Responsable de laboratoire de biomonitoring - Centre de Recherche Public en Santé, Luxembourg

M. Mohammed BENHAMED - Médecin - endocrinologue - toxicologue - INSERM. *Démission le 16 février 2013*

M. Nicolas BERTRAND - Ingénieur - INRS

M. Olivier BLANCHARD - Expologue - EHESP

Mme Martine CLAUW - Toxicologue-vétérinaire - INPT/ENVT, Université de Toulouse

M. Jean-Pierre CRAVEDI - Directeur de Recherche - INRA

Mme Elisabeth ELEFANT - Médecin spécialisé en tératologie humaine - Centre de référence sur les Agents tératogènes - AP-HP hôpital Armand Trousseau, Paris

Mme Florence EUSTACHE - Médecin - CECOS, AP-HP, Hôpital Jean Verdier, Paris

Mme Véronique EZRATTY - EDF, Médecin de l'Institut Gustave Roussy (Villejuif) et d'un service de prévention et de dépistage des tumeurs de la ville de Paris

Mme Joëlle FEVOTTE - Chercheur - UMRESTTE UCB Lyon 1

M. René HABERT - Professeur des universités - Université Paris Diderot

Mme. Brigitte LE MAGUERESSE-BATTISTONI - Directeur de Recherche - INSERM

M. Frédéric LEMARCHAND – Analyse sociologique - Université de Caen. *Démission le 24 janvier 2013*

Mme Laura MAXIM - Chargée de recherche - CNRS

Mme Corinne MANDIN - Ingénieur expologue - CSTB

M. Christophe MINIER - Ecotoxicologue - Université du Havre

M. Luc MULTIGNER - Médecin épidémiologiste - INSERM

M. Alexandre PERY - Responsable d'unité - INERIS

M. Wilfried SANCHEZ - Ecotoxicologue - INERIS

Mme Anne STEENHOUT - Exposition agrégée - Université libre de Bruxelles, Belgique

Mme Larissa TAKSER - Médecin épidémiologiste - Université de Sherbrooke, Canada

M. Patrick THONNEAU - Médecin - INSERM

Mme Catherine VIGUIE – Vétérinaire – Directrice de Recherche INRA

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Sandrine FRAIZE-FRONTIER – Adjointe, Unité de Méthodologie et études relatives aux risques physico-chimiques – Anses

Contribution scientifique

Mme Christelle BAKHACHE – Chargée de Projets, Unité Risques et Société - Anses

M. Mathieu FINTZ – Chef de Projets, Unité Risques et Société – Anses *Démission en septembre 2011*

Secrétariat administratif

Mme Sandrine FRAIZE-FRONTIER – Adjointe, Unité de Méthodologie et études relatives aux risques physico-chimiques - Anses

AUDITION DE PERSONNALITES EXTERIEURES

Union des Industries Chimiques

- M. Patrick Lévy – Médecin conseil de l'UIC

Centre de Recherche Sens, Ethique, Société

- M. Pierre Jouannet – Docteur en Médecine, Professeur des Universités

INRA – Unité Mét@risk

- Mme. Sandrine Blanchemanche – Docteur en Sociologie
- Mme Laura Maxim – Docteur en Economie

Organisation de Coopération et de Développement Economiques

- Mme. Laurence Musset – Responsable du programme de tests guidelines
- Mme. Nathalie Delrue – Toxicologue, Direction de l'Environnement

Women in Europe for a Common Future

- Mme Anne Barre – Fondatrice et Présidente du WECF France
- Mme. Elizabeth Ruffinengo – Chargée de plaidoyer WECF France

Comité de Recherche et d'Informations Indépendantes sur le génie GENétique

- M. Gilles-Eric Séralini – Président du Conseil Scientifique du CRIIGEN, Professeur de Biologie moléculaire

Tufts University – Sackler School of Graduate Biomedical Sciences

- Mme. Ana Soto – Professeur en Anatomie et Biologie Cellulaire

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals

- M. Rémi Bars – Toxicologue, ECETOC

John Hopkin's School of Public Health – Center for Alternative Animal Testing

- M. Thomas Hartung – Professeur et Directeur du centre

Réseau Environnement Santé

- M. André Cicoella – Président du RES et chercheur à l'INERIS
- M. Gilles Nalbone – Membre du RES et Directeur de Recherche à l'INSERM

Université de Turku – Départements de Physiologie et de Pédiatrie

- M. Jorma Toppari – Chercheur Principal, Professeur.

Union Française des Consommateurs, Que choisir ?

- Olivier Andrault – Chargé de mission Alimentation et agriculture, ingénieur agroalimentaire

SOMMAIRE

Sigles et abréviations	9
1 Contexte, objet et modalités de traitement.....	11
1.1 Contexte	11
1.2 Objet de la saisine	15
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation	15
1.3.1 Moyens mis en œuvre	15
1.3.2 Objectifs	15
1.3.3 Méthodologie	16
2 Analyse thématique des auditions	20
2.1 Définitions et périmètre des perturbateurs endocriniens	20
2.1.1 Définitions proposées aux personnes auditionnées	20
2.1.2 Critères d'adhésion ou de rejet des différentes définitions.....	21
2.1.3 Périmètre des perturbateurs endocriniens.....	21
2.1.4 Mécanisme d'action	22
2.1.5 Epigénétique	22
2.1.6 Relation entre PE et reprotoxiques de catégorie 3.....	23
2.1.7 Variabilité au sein de la population générale.....	23
2.1.8 Place de l'épidémiologie dans l'identification des effets des PE relevant d'un mécanisme hormonal	23
2.2 Exposition	23
2.2.1 Agent exogène.....	23
2.2.2 Fenêtre d'exposition.....	24
2.2.3 Effet cocktail (Effet des mélanges)	24
2.2.4 Voie d'exposition.....	24
2.3 Remise en question des outils et méthodes d'évaluation du risque	24
2.3.1 Relation dose-réponse et faibles doses.....	24
2.3.2 Précision de la mesure de l'exposition	25
2.3.3 Temps d'observation.....	25
2.3.4 Extrapolation : animal/Homme – cellule/organisme	25
2.3.5 Imputabilité et facteurs confondants	26
2.3.6 Pertinence et poids de la preuve fourni par les différents tests.....	26
2.3.7 Modalités de validation des études.....	26
2.4 Propositions d'actions	27
2.4.1 Recherche.....	27
2.4.1.1 Priorisation	27
2.4.1.2 Harmonisation des méthodes.....	27
2.4.1.3 Coopération.....	27
2.4.2 Règlementation.....	27
2.4.3 Substitution	28
2.4.3.1 Problèmes posés par la substitution.....	28
2.4.3.2 Leviers de substitution.....	28
2.4.4 Information	28
2.4.5 Participation	29

2.4.5.1	Modes et niveau de participation.....	29
2.4.5.2	Relation entre experts et parties prenantes.....	29
2.4.5.3	Relation entre la recherche et son contexte sociopolitique	29
2.4.6	Principe de précaution et niveau de preuve	30
3	Conclusion	31
3.1	Divergences et convergences sur les composantes de l'évaluation du risque	31
3.2	Bénéfices, limites et perspectives envisagés.....	33
4	Bibliographie.....	36
ANNEXES		40
Annexe 1 : Lettre de saisine		41
Annexe 2 : Liste des personnes auditionnées		43
Annexe 3 : Comptes rendus synthétiques des auditions réalisés par les experts du sous- groupe incertitudes et société		44
Annexe 4 : Grille d'analyse thématique utilisée pour le codage		101

Sigles et abréviations

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

AP-HP : Assistance publique - Hôpitaux de Paris

BPA : Bisphénol A

BPL : Bonnes Pratiques de Laboratoire

CECOS : Centre d'étude et de conservation des œufs et du sperme humains

CES : Comité d'Experts Spécialisé

CEFIC : European chemical industry council

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CMR : Cancérogène Mutagène Reprotoxique

CRIIGEN : Comité de recherche et d'information indépendantes sur le génie génétique

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

DGPR : Direction Générale de la Prévention des Risques

DGS : Direction Générale de la Santé

DJA : Dose Journalière Admissible

ECETOC : European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals

Centre Européen d'écotoxicologie et de toxicologie des produits chimiques

ECHA : European Chemicals Agency

Agence européenne des substances chimiques

ECVAM : European Centre for the Validation of Alternative Methods

Centre Européen de Validation des méthodes alternatives

EFSA : European Food Safety Authority

Autorité européenne de sécurité des aliments

(US) EPA : Environmental Protection Agency

Agence de Protection de l'Environnement (Etats Unis)

ERS : Evaluation des Risques Sanitaires

GT : Groupe de Travail

INERIS : Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

IPCS : International Program on Chemical Safety

Programme international sur la sécurité des substances chimiques

OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONG : Organisation Non Gouvernementale

OIT : Organisation Internationale du Travail

PE : Perturbateur Endocrinien

PME : Petites et Moyennes Entreprises

PNSE : Plan National Santé-Environnement

REACH : Registration, Evaluation, Authorization, and restriction of Chemical Substances
Enregistrement, évaluation, autorisation, et interdiction des substances chimiques.

RES : Réseau Environnement Santé

UFC : Union Française des Consommateurs

UIC : Union des Industries Chimiques

WECF : Women in Europe for a Common Future
Femmes en Europe pour un futur commun (ONG)

1 Contexte, objet et modalités de traitement

1.1 Contexte

Le concept de perturbateur endocrinien (PE) trouve ses origines aux Etats-Unis. Ses débuts ainsi que son évolution initiale sont retracés dans ses dimensions scientifiques, sociales et politiques dans le livre publié en 2000 par Sheldon Krimsky, *Hormonal Chaos*. La source de la controverse est la formulation, dans les années 1990, d'une hypothèse sur l'origine des maladies environnementales, basée sur des observations chez l'Homme et dans la faune sauvage. Cette hypothèse met en avant la capacité de certaines substances chimiques à mimer ou à bloquer l'activité des hormones et ainsi à perturber l'activité du système endocrinien, chez l'Homme et chez l'animal. Krimsky (2000) identifie trois voies scientifiques de remontée de cette hypothèse : la découverte des effets intergénérationnels du diéthylstilbestrol (DES) souvent cité sous le nom de Distilbène®, les études de laboratoire et de terrain qui associent les perturbations reproductives de la faune sauvage avec les substances chimiques issues des effluents industriels et urbains et les pesticides, et la recherche investiguant un possible déclin global de la qualité et la quantité spermatique chez l'homme (Krimsky 2000).

L'hypothèse des perturbateurs endocriniens a été précisée pour la première fois en 1991, à la conférence de Wingspread. Elle a été renforcée quelques années plus tard, en 1997, quand le chercheur américain Frederick vom Saal a présenté ses résultats expérimentaux mesurant des effets du bisphénol-A (BPA) sur les souris, mettant en évidence des effets du BPA à des faibles doses, plus basses que celles réglementaires (Vogel 2009). Cette observation remet en question les protocoles actuellement employés dans le cadre des procédures réglementaires. Parmi les points clés de divergence autour des PE se trouvent la monotonie de la relation dose-réponse et les effets potentiels des faibles doses. Il ne s'agit d'ailleurs que du dernier épisode de controverses d'une série plus longue concernant les effets des faibles doses (Chateauraynaud, Debaz *et al.* 2011).

Après les premiers signaux d'alerte des années 1990, plusieurs comités d'experts ont émis des messages contradictoires (avec des résultats aussi polarisés que « il n'y a aucun risque » jusqu'à « toutes les personnes exposées sont à risque » pour le BPA (Beronius, Rudén *et al.* 2010). Parmi les PE, le BPA a un haut profil médiatique, en raison des enjeux économiques, scientifiques et politiques élevés qu'il représente.

La question centrale que posent les PE n'est pas seulement celle – de la définition¹ – des risques d'une substance ou d'une autre, mais celle beaucoup plus large des méthodes les plus appropriées pour évaluer le risque chimique (le « paradigme » pertinent en toxicologie réglementaire) pour s'assurer que la meilleure connaissance disponible à un moment donné est utilisée dans la prise de décisions. Les normes de qualité utilisées par les agences pour valider ou invalider la connaissance scientifique disponible dans un contexte réglementaire ont pris une place centrale dans la controverse. Les résultats scientifiques débattus sont soulignés dans l'argumentaire des représentants de la société civile, qui les ont mobilisés pour prendre position sur la réglementation des risques.

¹ La définition du terme « perturbateur endocrinien » est une question encore débattue aujourd'hui. Elle a fait l'objet d'une question spécifique posée aux personnes auditionnées. Plusieurs définitions du terme « perturbateur endocrinien » (co-)existent sans qu'aucune ne fasse véritablement consensus ; celle choisie par le GT PE a fait l'objet d'un avis de l'Anses du 27 mars 2012.

Krimsky labellise la controverse autour des PE comme étant caractéristique d'une situation post-normale (Krimsky 2000). La science post-normale est un courant de pensée initié par le mathématicien Silvio Funtowicz et le philosophe Jerry Ravetz dans un ouvrage de référence publié en 1990 (S.O. Funtowicz 1990). La caractérisation de « post-normale » est construite par différenciation de la science « normale », qui serait celle décrite par Thomas Kuhn dans son œuvre, *La structure des révolutions scientifiques* (Kuhn 1962). La science normale aurait deux caractéristiques :

- une démarche de recherche qui vise à accumuler des indices qui s'avèrent être tout autant de pièces d'un puzzle et qui, une fois réunis, créeront une image d'ensemble compréhensible et cohérente ;
- l'existence d'un paradigme, d'un cadre théorique de référence reconnu comme tel dans un domaine disciplinaire et qui reçoit l'adhésion de la majorité des chercheurs actifs dans le domaine respectif.

Selon Funtowicz et Ravetz, la science normale, qui fonctionnerait donc selon les principes évoqués ci-dessus, est bouleversée et s'avère inadaptée lorsque les connaissances scientifiques doivent être mobilisées dans des activités d'expertise sanitaire ou environnementale.

Ces situations sont caractérisées par des incertitudes scientifiques importantes, des enjeux politiques majeurs et des jugements de valeur en conflit.

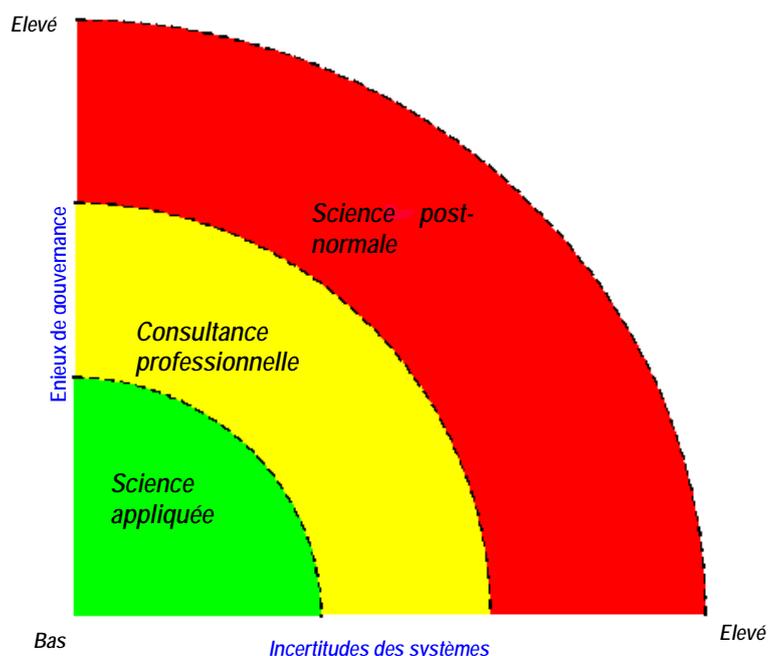


Figure 1 : Trois types de stratégies de résolution de problèmes en fonction des enjeux de la controverse et des incertitudes (Diagramme de la science post-normale, extrait de (Funtowicz and Ravetz 1993))

Que propose la science post-normale ? Elle propose de nouvelles pratiques d'expertise pour aborder des problèmes environnementaux complexes, caractérisés notamment par deux innovations :

- une attention particulière donnée à l'évaluation et la gestion de l'incertitude, et
- l'ouverture vers la « communauté élargie des pairs ». Cette dernière réunirait l'ensemble des acteurs qui ne sont pas identifiés institutionnellement comme étant des « experts ». Ils pourraient notamment apporter leur connaissance des conditions locales (à mettre en perspective avec les approches théoriques des modèles ou des expérimentations en laboratoire), qui aideraient à affiner les paramètres d'observation ou d'expérimentation les

plus importants, à mieux réfléchir aux possibles relations causales et à mieux mettre en accord les hypothèses faites par les experts avec la réalité du terrain.

Dans le domaine de l'ERS – notamment dans le champ de la Santé-Environnement –, l'évaluation pluridisciplinaire des incertitudes prend de plus en plus d'importance comme en témoigne le nombre important de travaux de recherche sur le sujet (Maxim and van der Sluijs 2011; Ramsey 2009; Refsgaard, van der Sluijs *et al.* 2007; Van Asselt and Rotmans 2002; Verdonck, Souren *et al.* 2007; Walker, Harremoës *et al.* 2003) et les recommandations formulées par différentes instances européennes ou internationales.

Au cours du vingtième siècle, les économistes tels que Keynes (1921) et Knight (1921) faisaient la différence entre *risque* (situation où les probabilités des états futurs du monde peuvent être calculées) et *incertitude* (où le calcul de ces probabilités n'est pas possible). L'approche dominante traitant de ces questions considère le caractère non conclusif des informations factuelles comme provisoire, invitant ainsi à tenter de réduire l'incertitude par une augmentation des efforts de recherche (Craye and Funtowicz 2005). Bien souvent, le contexte sociopolitique de l'incertitude est insuffisamment appréhendé (Ravetz 1999; Wynne 1992). Mais lorsqu'on comprend que l'incertitude renvoie à la pertinence des connaissances disponibles pour le contexte de décision, on se rend compte qu'elle peut être présente dans des situations où une quantité importante de connaissances est disponible. D'ailleurs les nouvelles connaissances ne réduisent pas forcément l'incertitude, mais peuvent également mettre en évidence des aspects qui n'avaient pas été envisagés avant, et donc augmenter la perception du caractère non conclusif des connaissances disponibles – autrement dit de l'incertitude (Van Asselt and Rotmans 2002; van der Sluijs 2006). Par ailleurs, pour un même état « objectif » de la science, les mêmes connaissances scientifiques peuvent être mobilisées de manières divergentes dans les discours contradictoires prononcés sur la scène sociopolitique, par des acteurs à enjeux sociopolitiques et économiques opposés (Craye and Funtowicz 2005). Les divers acteurs peuvent utiliser la science de manière stratégique dans les débats publics. De cette manière, l'incertitude peut être « réduite » ou « augmentée » (par exemple, en sélectionnant pour appuyer son argumentaire public, parmi toutes les sources d'information disponibles, celles qui sont en accord avec l'agenda politique de tel ou tel acteur) (Hellström, 1996, Van der Sluijs, 1997, 2006, Chalas *et al.*, 2009), voire « créée » (par exemple, par le soutien financier à la recherche qui a un potentiel a priori élevé de produire des résultats qui prolongent la controverse) (Michaels, 2005, Oreskes et Conway, 2010). Divers acteurs engagés dans une controverse peuvent mettre en avant des connaissances scientifiques de façon sélective, voire en décalage avec l'état de l'art scientifique, selon un phénomène de « création sociale de l'incertitude ».

Selon van der Sluijs (2006), la littérature récente a permis la compréhension de plusieurs caractéristiques de l'incertitude (van der Sluijs 2006) :

- L'évaluation de l'incertitude implique un jugement subjectif ; on peut rajouter que ce jugement est influencé de manière significative par le niveau et le type de compétence scientifique sur le sujet.
- L'incertitude doit être comprise au-delà de la simple erreur statistique, la variabilité naturelle des paramètres ou l'inexactitude des nombres ; de plus en plus, on comprend que l'incertitude possède plusieurs dimensions, dont certaines sont quantitatives mais d'autres qualitatives, raison pour laquelle les évaluations quantitatives et qualitatives de l'incertitude doivent être toujours complémentaires, l'une n'étant pas complète sans l'autre.

- L'incertitude peut se manifester à des endroits très divers dans le cycle de vie de la connaissance, à commencer par le cadrage contextuel du problème (exemples : le contexte réglementaire d'une expertise, la définition de la question à laquelle l'expertise doit répondre), en passant par le choix des paramètres, des données et des modèles à considérer, la robustesse des méthodes analytiques ou des protocoles d'expérimentation, la pertinence des hypothèses élaborées pour remplacer la connaissance manquante, et jusqu'à la communication des résultats, leur interprétation et leur utilisation.
- Pour les problèmes complexes caractérisés par des enjeux économiques et politiques importants associés à l'expertise, les dimensions qualitatives tendent à dominer les dimensions quantitatives. Alors que les méthodes quantitatives d'évaluation de l'incertitude sont très souvent promues et utilisées, les méthodes qualitatives sont encore à leurs débuts. Récemment, des méthodes qualitatives telles que NUSAP (Numeral, Unit, Spread, Assessment, and Pedigree)² ont été utilisées sur plusieurs études de cas et ont démontré leur faisabilité. Parmi les incertitudes les moins prises en considération, sont celles provenant de la structure des modèles, et des hypothèses sur lesquelles est basée l'expertise.

Considérer l'incertitude comme étant une réalité de nature subjective revient à attribuer des niveaux et des sources d'incertitude différents à chaque individu. En effet, il a été montré que des experts différents peuvent exprimer des niveaux différents d'incertitude sur les mêmes données brutes, ce qui les conduit à interpréter ces mêmes données de manière différente et d'en tirer des conclusions parfois divergentes sur leur pertinence toxicologique (Rudén 2001).

La définition de l'incertitude adoptée dans ce rapport fait référence à une situation où le corpus de connaissances disponibles sur un sujet particulier (exemple : les effets toxicologiques des PE) est perçu comme « problématique » (à savoir, peu connu ou inconnu, incomplet, incorrect, biaisé, pas assez convainquant...) par divers individus. Il s'agit donc d'une définition qui va au-delà d'un « manque de connaissances », pour inclure le potentiel d'erreur ou de biais, les insuffisances techniques des instruments de recherche, les insuffisances méthodologiques des protocoles de recherche, les choix par jugement d'expert des hypothèses qui remplacent les connaissances scientifiques manquantes, les divergences d'interprétation des données brutes disponibles et le caractère incomplet, incorrect ou ambigu de la communication des résultats.

Prendre comme point de départ une définition de l'incertitude comme ayant une nature subjective (Chalas, Gilbert *et al.* 2009) permet d'y inclure les « aspects problématiques » de la connaissance scientifique mis en avant par les divers scientifiques ou les autres acteurs. En effet, d'une personne à l'autre, ces aspects problématiques seront différents, à la fois en ce qui concerne leur contenu et en ce qui concerne leur niveau d'importance. C'est pourquoi il a été décidé de traiter cette question de l'incertitude liée aux effets toxicologiques des perturbateurs endocriniens par la tenue d'auditions permettant de dépeindre le contenu qu'elle prend pour les divers scientifiques et acteurs s'exprimant publiquement sur la question.

Cette démarche innovante est particulièrement utile pour amorcer le développement d'une typologie d'incertitudes adaptée aux risques des PE, car il a été montré que les classifications des sources d'incertitudes ne sont pas extrapolables sans modification d'une problématique à une autre (exemple : de la modélisation écologique ou du risque nucléaire aux risques chimiques)

² <http://www.nusap.net/>

(Maxim and van der Sluijs 2011). Chaque problématique nécessite le développement d'une typologie de sources d'incertitudes qui lui est adaptée.

1.2 Objet de la saisine

Dans la continuité de l'expertise Inserm, par courrier du 4 juin 2009, la direction générale de la santé (DGS) a saisi l'Agence en vue d'une expertise sur les risques sanitaires pour le consommateur liés à des substances reprotoxiques de catégorie 3 et/ou perturbateurs endocriniens présents dans des produits et/ou articles mis sur le marché, dont le bisphénol A (BPA).

Par courrier daté du 18 février 2010, l'Anses a été saisie par la direction générale de la prévention des risques (DGPR) afin d'évaluer les risques sanitaires résultant d'une exposition de l'Homme au BPA *via* l'environnement. (cf. ANNEXE 1)

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

1.3.1 Moyens mis en œuvre

L'Anses a confié au groupe de travail « Perturbateurs endocriniens et reprotoxiques de catégorie 3 » rattaché au comité d'experts spécialisé « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » (CES « Chimie ») l'instruction de ces saisines. Le sous-groupe « Incertitudes et société » a notamment été chargé de traiter la question des représentations sociales et scientifiques autour des incertitudes liées à la problématique des perturbateurs endocriniens. Il s'agit là de l'objet du présent rapport. La tenue d'auditions de scientifiques et de représentants de parties prenantes a permis d'initier un travail d'identification des sources d'incertitudes, qui seront mobilisées par la suite dans une évaluation qualitative de l'incertitude.

Ce rapport du sous groupe a été soumis au GT dans son ensemble puis au CES « Chimie ». Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations, commentaires et éléments complémentaires transmis par les membres du CES. Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

1.3.2 Objectifs

La présente étude, démarche originale d'ouverture aux parties prenantes et de synthèse des positions des divers acteurs de la controverse, a eu comme objectif de permettre une caractérisation des diverses formulations des certitudes et des incertitudes qui entourent les PE et de cette façon mieux identifier certains déterminants de la controverse. Par ailleurs, l'analyse thématique des formes de mobilisation de la science dans leur argumentation, par les chercheurs autres que ceux appartenant au GT et par les acteurs sociaux, a contribué à préciser une typologie des incertitudes, utile pour l'évaluation des risques des perturbateurs endocriniens.

Deux autres objectifs se sont également démarqués : caractériser le spectre d'actions considérées pertinentes en réponse à la problématique PE et comprendre les trajectoires personnelles qui ont contribué ou contribuent à la définition publique des PE comme « risque ».

Pour atteindre ces objectifs, les questions suivantes ont été investiguées (voir aussi section 1.3.3) :

- la diversité des définitions mises en avant par différentes parties prenantes ;
- les diverses approches théoriques et méthodologiques des communautés épistémiques concernées par les perturbateurs endocriniens ;
- les incertitudes présentes dans la connaissance des effets et/ou risques des perturbateurs endocriniens ;
- les différents niveaux de preuve associés par les parties prenantes aux connaissances scientifiques disponibles, conduisant à des propositions d'actions différentes ;
- les niveaux d'implication des parties prenantes et du public, dans le processus d'expertise et dans la prise de décisions, considérés souhaitables.

1.3.3 Méthodologie

- Temps et forme des entretiens

Douze auditions ont été réalisées entre septembre 2010 et novembre 2011 suivant une méthodologie d'entretiens semi-directifs. Une heure et demi a été accordée à chaque audition en présence d'un panel variable composé d'agents de l'ANSES et de membres du GT « perturbateurs endocriniens » ou encore du CES « Chimie ».

Les auditions ont été menées de manière à permettre un échange sur les thématiques évoquées et de pouvoir approfondir le questionnement à partir des propos présentés par les personnes auditionnées. Cette méthode a pour avantage d'établir une conversation spontanée permettant d'aller au-delà des sujets anticipés dans les questions initialement communiquées.

Les auditions devaient permettre à la fois d'approfondir le débat scientifique sur la caractérisation des incertitudes et de documenter la manière dont les interrogations scientifiques font écho aux positions des parties prenantes et aux perceptions sociales. Elles visaient à renseigner notamment les cinq axes de la controverse cités dans les objectifs (voir 1.3.2).

- Questionnaire d'audition
 - Méthode d'établissement de la grille d'entretien

Les premières réunions du sous groupe « Incertitudes et société » ont été consacrées à l'établissement de la méthode à déployer.

Suite aux premières auditions, une grille d'entretien a été stabilisée pour un envoi préalable aux personnes auditionnées. Dès lors il leur a été demandé de préparer une présentation répondant aux questions pour entamer la discussion avec le groupe d'experts.

- Liste des questions posées

Les questions suivantes ont été transmises aux personnes auditionnées en amont de leur venue :

Question 1: quelle est selon vous la définition d'un effet perturbateur endocrinien ? Parmi les définitions scientifiques et réglementaires d'un perturbateur endocrinien qui sont proposées par divers organismes (Kavlock/EPA, 1996 ; OMS, 2000 ; UE, 1997 ; Endocrine Society, 2009), quelle est celle qui, à votre avis, semble le mieux convenir ?

Question 2 : quel est selon vous l'impact des PE et des reprotoxiques de catégorie 3 sur la reproduction et la fertilité?

Question 3 : comment avez-vous rencontré ces questions dans votre trajectoire de recherche, de praticien, d'innovateur, de militant?

Question 4 : quelles sont la nature et les sources d'incertitude dans l'évaluation des risques sanitaires de substances PE et reprotoxiques de catégorie 3 en rapport avec la fertilité et la reproduction ? Comment selon vous peut-on hiérarchiser ces sources et nature des incertitudes ? Comment ces natures et sources d'incertitudes sont-elles prises en compte au quotidien de la [recherche], de la [pratique médicale], de l' [évaluation de risque] et de l' [innovation industrielle] [selon vos domaines de compétence] ? Quels sont les points de certitude ?

Question 5 : quelles seraient les actions prioritaires à entreprendre (recherche encadrement législatif ou réglementaire, incitation économique, information, etc.) pour mieux maîtriser les risques liés à ces substances ?

Question 6 : quelle devrait être la contribution du public (parties prenantes : Organisations Non Gouvernementales, industriels, notamment) dans une évaluation de risque ?

- Sélection des personnalités auditionnées
 - Démarche de sélection

La sélection des personnes auditionnées s'est faite sur propositions des membres du GT PE. A partir d'une liste de 23 personnes proposées, huit personnes ont décliné l'invitation et quelques autres ont renvoyé vers une autre personne pertinente à auditionner. Au total, douze personnes ont été auditionnées (cf. ANNEXE 2).

- Présentation des personnes auditionnées d'après les informations extraites des auditions

Afin de présenter les personnes auditionnées nous avons relevé, à partir des auditions, des informations concernant le positionnement de chaque personne auditionnée par elle-même face à la problématique des perturbateurs endocriniens. Ces informations, extraites de leur audition sont présentées ci-après dans l'ordre chronologique dans lequel ont été tenues les auditions. Les informations concernant leurs institutions d'appartenance se trouvent en ANNEXE 2.

Ana Soto évoque sa participation à la conférence de Wingspread en 1991 suite à la découverte par son équipe de recherche des propriétés oestrogéniques du nonylphénol. Elle a donc participé aux réunions académiques qui ont abordé de manière précoce la problématique des PE.

Sandrine Blanchemanche explique son travail sur l'évaluation empirique des incertitudes dans l'évaluation du risque.

Les représentants du Réseau Environnement Santé, **André Cicolella et Gilles Nalbone**, soulignent leur appartenance à la communauté scientifique. Ils ont fait des PE un des axes majeurs de l'action du réseau auquel ils appartiennent.

Patrick Lévy s'est présenté comme représentant de l'Union des Industries Chimiques. L'organisation qu'il représente n'a, selon ses propos, pas de compétence scientifique propre et

s'en remet aux avis rendus par les Agences et à l'analyse des publications reconnues dans le monde scientifique.

Gilles Eric Séralini se présente en tant que professeur en endocrinologie moléculaire à l'Université de Caen, associé également à l'INRA et au CNRS. Les orientations principales qu'il cite sont les perturbations endocrines sur les processus cancérologiques, la biologie moléculaire des protéines de transport des stéroïdes et l'aromatase. Il est aussi membre du CRIIGEN, association contractualisant des programmes de recherche sur des substances chimiques et sur les Organismes Génétiquement Modifiés. Cette association regroupant des scientifiques de multiples disciplines n'est pas, selon ses dires, une association de militants.

Le WECF est représenté par **Anne Barre et Elisabeth Ruffinengo**, qui ont toutes deux des formations généralistes, respectivement en gestion de projets et en droit. L'association travaille sur la thématique des produits chimiques et santé depuis sa création. Plus particulièrement, elle s'occupe de la santé reproductive des femmes et de la santé du nouveau né. En plus de publications, le réseau a mené diverses campagnes et projets sur ces problématiques. Les deux représentantes ont précisé que la réponse aux questions scientifiques avait été rédigée avec deux membres de leur comité d'experts, le Dr. Sasco, épidémiologiste à l'Inserm, et Mme. Corre, ingénieur en matériaux et design industriel.

Thomas Hartung se présente comme biochimiste et médecin. Il se démarque de toute appartenance institutionnelle et de toute représentativité de ses propos d'une position officielle. À la tête de l'ECVAM, il met les PE à l'agenda de son organisation. Il ne se dit pas lui-même expert sur les PE, mais s'intéresse aux stratégies et tests liés à la perturbation endocrinienne.

Jorma Toppari se présente comme biologiste de la reproduction, et expose son travail sur la santé reproductive masculine. Il a travaillé sur la régulation de la spermatogénèse depuis le début de ses études. Par ailleurs il a été formé en endocrinologie pédiatrique.

Rémi Bars se présente comme toxicologue travaillant à l'ECETOC où il préside la task-force sur les perturbateurs endocriniens.

Pierre Jouannet, médecin hospitalier biologiste de la reproduction, s'est intéressé à la reproduction masculine depuis les années 1960. Les résultats de ses études sur la variabilité temporelle et géographique de la qualité du sperme ont été les premières à mettre en avant des différences qui ont été attribuée à des facteurs environnementaux, dont les PE.

Les représentantes de l'OCDE, **Laurence Musset et Nathalie Delrue**, se présentent respectivement comme responsable et collaboratrice du programme sur les tests guidelines, programme dont la moitié de l'activité porte sur les PE (part de plus en plus importante depuis 1998).

Olivier Andrault représentant de l'UFC- Que choisir ?, précise son appartenance à un service dit « politique » et généraliste. Il ne porte donc pas une position d'experts sur les PE et l'association qu'il représente s'intéresse aux problématiques préoccupant pour les consommateurs.

- Méthodologie de traitement et d'analyse des données issues des auditions

Les douze auditions réalisées ont fait l'objet d'un enregistrement audio retranscrit dans un verbatim écrit. Une première lecture de ces documents ainsi que des synthèses réalisées par les

experts du sous groupe³ a permis d'établir une grille thématique d'analyse des propos des personnes auditionnées. Evolutive, cette grille a été modifiée au fur et à mesure de l'extraction des données pour englober l'ensemble des propos se référant au sujet traité dans ce rapport.

Le codage des transcriptions et l'extraction des données ont été réalisés par deux personnes, un expert du GT et un agent de l'ANSES, avec une coordination des formats, thèmes et évolution de la grille et une relecture par ce même agent de l'ANSES. Ce codage a consisté en un prélèvement des propos des personnes auditionnées pour chaque thème de la grille d'analyse (cf. ANNEXE 4). Afin de permettre la mise en perspective des auditions les unes avec les autres, il a été créé un document par thème rassemblant les propos de toutes les auditions, propice pour une analyse thématique (Silverman, 2011). Visuellement cohérent, ces documents ont permis un aperçu global puis détaillé de l'expression de chacun sur chaque thème pour une extraction, à terme, des divergences et convergences des personnes auditionnées sur la question des sources d'incertitudes liées aux perturbateurs endocriniens. Le résultat de l'analyse a été soumis à plusieurs reprises au sous-groupe et amendé en conséquence à la suite des échanges.

C'est à partir de ces documents qu'a été rédigée l'analyse ci-dessous. Celle-ci reprend les propos des personnes auditionnées tels qu'énoncés lors des divers entretiens. Le positionnement propre au sous-groupe et au GT apparaît à la fin du document dans le paragraphe final.

D'un point de vue méthodologique, il est essentiel de rappeler qu'il ne saurait être question, d'attribuer plus de crédit à tel ou tel discours, donc à tel ou tel acteur. La question n'est pas de savoir si ce qu'énoncent les uns et les autres est vrai ou faux, plausible ou improbable, mais de restituer un ensemble de propositions de natures très différentes (sentiments, expérience, avis, etc.) qui s'articulent dans une rhétorique argumentative. On ne doit pas perdre de vue que les personnes auditionnées sont en situation d'interview, dans une agence sanitaire. Ils pourraient produire des énoncés différents dans un autre contexte et ces énoncés peuvent changer dans le temps en fonction du contexte.

³ Ces synthèses regroupées à l'ANNEXE 4 ont été validées par les personnes auditionnées pour publication.

2 Analyse thématique des auditions

2.1 Définitions et périmètre des perturbateurs endocriniens

2.1.1 Définitions proposées aux personnes auditionnées

Les définitions suivantes ont été transmises aux personnes auditionnées dans la version de publication originale en langue anglaise. Les traductions proposées sont fournies pour information à destination des lecteurs non anglophones. Elles ne sont, en aucun cas, les traductions officielles de la définition à laquelle elles correspondent et ne sauraient être citées dans leur version française.

Définition de Weybridge (1996) : “an exogenous substance (*i.e.* a substance not originating in an organism) that causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, secondary (consequent) to changes in endocrine function. A potential endocrine disrupter is a substance that possesses properties that might be expected to lead to ED in an intact organism.”

Proposition de traduction : une substance exogène (ne se trouvant pas à l'origine dans un organisme) qui cause des effets adverses dans un organisme intact, ou sa descendance, suite à des modifications de ses fonctions endocriniennes. Un perturbateur endocrinien potentiel est une substance qui possède des propriétés dont on peut s'attendre à ce qu'elles entraînent une perturbation endocrinienne dans un organisme intact.

Définition de la Commission Européenne (1996): "An endocrine disruptor is an exogenous substance that causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, secondary to changes in endocrine function."

Proposition de traduction : un perturbateur endocrinien est un agent exogène qui cause des effets adverses sur la santé d'un organisme intact ou de sa descendance, consécutivement à des changements dans la fonction endocrinienne.

Définition de R. Kavlock / EPA (1996): “An ED is an exogenous agent that interferes with the production, release, transport, metabolism, binding, action or elimination of natural hormones in the body responsible for the maintenance of homeostasis and the regulation of developmental processes.”

Proposition de traduction : Un perturbateur endocrinien est un agent exogène qui interfère avec la production, la libération, le transport, le métabolisme, la liaison, l'action ou l'élimination des hormones naturelles endogènes du corps qui sont responsables du maintien de l'homéostasie et de la régulation de processus de développement.

Définition de l'Endocrine Society (2009) : “An endocrine-disrupting substance is a compound, either natural or synthetic, which through environmental or inappropriate developmental exposures alters the hormonal and homeostatic systems that enable the organism to communicate with and respond to its environment.”

Proposition de traduction : une substance dite perturbateur endocrinien est un composé naturel ou synthétique, qui lors d'expositions environnementales ou non appropriées altère les systèmes hormonaux et homéostatiques qui permettent à l'organisme de communiquer avec et de répondre à son environnement.

Définition de l'Organisation Mondiale de la Santé (par l'*International Program on Chemical Safety*) (2000) : " An endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub) populations."

Proposition de traduction : Un perturbateur endocrinien est une substance exogène ou un mélange de substances qui altère la(es) fonction(s) du système endocrinien et cause par conséquent des effets adverses sur la santé d'un organisme intact, de sa descendance ou de ses (sous) populations.

2.1.2 Critères d'adhésion ou de rejet des différentes définitions

Seules les deux personnes auditionnées ne se considérant pas comme experts sur les PE n'ont pas avancé de définition ou discuté la portée des différentes définitions existantes. En revanche, les dix autres personnes ont choisi ou énoncé une définition qui leur sert ou qui devrait servir, d'après eux, de référence.

La définition la plus plébiscitée par le panel est la définition de l'OMS. La première chose à noter est qu'il n'existe pas de consensus autour de cette définition. La définition de l'OMS est considérée, par certains, comme n'étant pas assez précise pour servir de base à un cadre réglementaire sur les PE. Pour ceux là, une des difficultés réside dans le risque de recouvrement des classifications réglementaires PE et Cancérigène Mutagène Reprotoxique (CMR). En revanche, son caractère international lui apporte l'adhésion d'organisations travaillant à cette échelle. Sa formulation moins ambiguë que les autres (notamment que la définition de l'Endocrine Society) fait dire qu'elle est soit la plus précise, soit qu'elle est identique à celle de la Commission Européenne.

Pour les personnes auditionnées préférant la définition de la Commission Européenne, les différences avec celle de l'OMS ne sont pas patentes, mais là encore la précision est le critère d'adhésion souligné. Par rapport à celle de l'EPA, la définition de la Commission Européenne prend en compte les effets cancérigènes des PE. Ces deux définitions incluent à la fois un effet modulateur (réducteur ou mais aussi stimulateur) des PE sur le système hormonal. La définition de l'EPA est dite « plus libérale » plus simple et faciliterait pour une des personnes auditionnées les modes d'identification des PE. Elle n'introduit pas de notions « problématiques » telles que « effet adverse » ou « organisme intact ».

La définition de Weybridge est également citée comme définition de travail. La définition de Weybridge a une prépondérance historique, et la participation au panel l'ayant énoncé explique son adhésion pour une des personnes auditionnées. Le fait que la définition de Weybridge évoque les effets des PE sur la descendance lui apporte le soutien des personnes auditionnées cherchant à faire reconnaître cette caractéristique des PE. De même, la définition de l'Endocrine Society met l'accent sur l'exposition durant la gestation et reçoit pour cela le soutien des mêmes personnes. Par ailleurs, celles-ci rejettent une définition des PE par leurs effets sur la santé, soulignant l'ambiguïté d'une telle formulation.

On perçoit bien au travers du panel des personnes auditionnées l'absence de consensus face à la définition des PE : les raisons d'adhésion des uns (précision, caractère explicite) sont les raisons du rejet par les autres. On n'observe pas de différenciation évidente, en ce qui concerne la préférence pour une définition ou autre, entre les scientifiques et les autres personnes auditionnées. La coexistence de cette multiplicité de définitions se décline dans les différents thèmes évoqués lors des auditions qui sont analysés dans le détail dans ce qui suit.

2.1.3 Périmètre des perturbateurs endocriniens

Les personnes auditionnées ne situent pas toutes les effets des PE aux mêmes niveaux d'organisation biologique. La plupart fait référence au système endocrinien dans son ensemble. Cependant au moment de détailler leur propos, les cibles biologiques de la perturbation diffèrent. Les organes (exemples : hypothalamus, glande mammaire, thyroïde, hypophyse, pancréas, testicule, etc.) et l'appareil génital ainsi que la fonction de reproduction (fertilité, différenciation sexuelle) sont les plus cités comme cibles de la perturbation avec ou sans référence aux

hormones. Un auditionné fait référence à l'homéostasie des êtres vivants, un autre aux voies métaboliques, enfin un autre aux processus de régulation à l'œuvre dans les organismes et qui, perturbés, conduisent à un déséquilibre des différentes fonctions.

De plus, concernant la perturbation attribuée aux PE, les personnes auditionnées citent des conséquences à l'échelle de l'organisme, de son développement et plus largement de la population (épidémie de maladies chroniques – obésité, diabète, cancer, problèmes de fertilité, conséquences sur plusieurs générations). Au niveau cellulaire, les cibles citées sont soit les cellules plus généralement, au niveau des récepteurs hormonaux et de la « communication cellulaire », soit des cellules particulières comme les neurones ou les cellules intestinales. Les mécanismes d'action peuvent concerner, comme l'explique un des scientifiques interrogés, le métabolisme des hormones, leur transport dans le sang ou leurs récepteurs cellulaires dans la cellule où elles vont aller. Enfin, le niveau génétique est considéré pertinent pour un scientifique, qui évoque la pollution du génome par les xénobiotiques.

2.1.4 Mécanisme d'action

Les personnes auditionnées décrivent, chacune avec un niveau de détail spécifique à leurs connaissances et leurs travaux de recherche, les mécanismes d'action des PE. De fait se crée une distinction citée par certains, implicite chez d'autres, entre effets primaires et secondaires des PE.

Alors même que, pour certains, les mécanismes d'action devraient avoir un rôle important par rapport à la définition des PE (par rapport à l'approche par effet sanitaire ou effet adverse), on reconnaît, de façon assez paradoxale, la difficulté de les aborder. En particulier les « organes endocriniens » ne se limitent pas aux gonades et à la thyroïde, mais comprennent aussi, entre autres, le pancréas ou les surrénales. Les mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens sont multiples et une caractérisation de la cascade de réponses depuis l'événement initiateur jusqu'aux effets serait d'une aide précieuse à la compréhension de ces effets et à leur évaluation.

Cependant, y compris dans le cas d'un mécanisme initiateur connu, des questions sont soulevées par des personnes auditionnées. Dans le cas de la liaison aux récepteurs aux œstrogènes (effets œstrogéno-mimétiques), par exemple, ces interrogations ont porté sur l'activation de ces molécules par une action métabolique (au niveau hépatique notamment) ; sur le transport et l'accumulation des molécules dans les organes cibles, et sur les capacités de réactions de l'organisme aux déséquilibres endocriniens.

Alors que les personnes auditionnées s'expriment au nom des organismes ciblés par la réglementation (l'industrie) ou responsables de sa mise à jour, insistent sur le rôle que devraient avoir les mécanismes d'action dans la définition réglementaire des PE, les scientifiques mais aussi certains représentants des associations, eux, suivent une démarche descriptive des mécanismes eux-mêmes. Un scientifique évoque par exemple la fixation des PE directement sur les protéines de transport au niveau hépatique, qui seraient ainsi acheminés vers les noyaux cellulaires des cellules gonadiques stéroïdogènes et qui agiraient par ce moyen sur le génome œstrogène-sensible en particulier lors de la vie embryonnaire. Un autre évoque la sous-régulation du Desert Hedgehog (DHH) lors des fenêtres d'exposition critiques.

2.1.5 Epigénétique

Trois personnes auditionnées évoquent les effets épigénétiques (possibles, probables ou avérés) des PE (modifications du système de protéines qui contribuent à réguler l'activité des gènes). Une des personnes auditionnées évoque de plus une possibilité de transmission de ces effets à la descendance sous l'action des PE.

Liée au questionnement sur l'exposition embryonnaire aux PE⁴, la question de l'épigénétique appelle à considérer le rôle de l'environnement dans l'expression des gènes (en modifiant

⁴ Voir, dans la conclusion (section 3.1), une discussion de cette approche de l'épigénétique.

notamment la méthylation de l'ADN, des modifications des histones, la production de microARN) et les pathologies qui peuvent en découler, ainsi que l'élaboration de nouveaux tests pour leur identification.

2.1.6 Relation entre PE et reprotoxiques de catégorie 3

Les substances reprotoxiques de catégorie 3 sont une catégorie de produits chimiques préexistant réglementairement aux PE. Bien que l'étude des effets des PE sur la reproduction les rapprochent, les personnes auditionnées s'accordent à les différencier et appellent à ce que les études portant sur les impacts des PE ne se focalisent pas uniquement sur la reproduction. De plus, les reprotoxiques peuvent agir autrement que par un mécanisme hormonal. Ces deux catégories ne peuvent donc pas être fusionnées et nécessitent des développements méthodologiques et réglementaires bien distincts.

2.1.7 Variabilité au sein de la population générale

La sensibilité de différentes populations vient, pour les personnes auditionnées qui l'évoquent, de deux facteurs de variabilité principaux : les différences entre les deux sexes et la susceptibilité génétique individuelle. Pour eux, il est nécessaire mais compliqué de considérer la vulnérabilité de sous-populations.

2.1.8 Place de l'épidémiologie dans l'identification des effets des PE relevant d'un mécanisme hormonal

La place de l'épidémiologie dans la mise en évidence des effets des PE relevant d'un mécanisme hormonal (perturbation endocrinienne) est longuement discutée par les personnes auditionnées. Considérées par certaines personnes auditionnées comme incontournables et surtout comme mode de validation ultime, les données épidémiologiques auraient un fort potentiel à permettre l'identification de ces effets. Dans certains cas, les observations épidémiologiques permettent l'identification de signaux d'alerte, comme par exemple les modifications de la fonction spermatique chez l'homme. Ces observations peuvent être ensuite affinées en fonction des différentes hypothèses causales élaborées, dont celle liée aux effets des PE.

Cependant, pour certaines personnes auditionnées, cette position est nuancée par la durée nécessaire aux études et le fait qu'elles arrivent trop tard, quand l'effet est déjà dans la population humaine, ce qui est incompatible avec une détection précoce et une application rapide du principe de précaution. En outre, pour ces mêmes personnes auditionnées les études épidémiologiques permettent rarement la mise en évidence d'effets qui s'expriment sur le long terme (comme pour les PE) et peuvent difficilement démontrer à elles seules des relations causales, surtout dans un contexte d'interactions multi-causales. S'impose donc la nécessité d'affiner *a posteriori*, une fois des signaux d'alerte identifiés, l'analyse des effets des substances par des tests *in vivo*, *in vitro* et *in silico* pour définir les profils toxicologiques et les mécanismes d'action. Un des scientifiques auditionnés souligne toutefois certaines limites que peuvent rencontrer les méthodes expérimentales *in vivo* à reproduire des effets observés dans certaines études épidémiologiques ; ainsi par exemple, on n'a pas encore réussi à induire le développement du cancer des testicules chez le rongeur bien que ce type de pathologie soit observé chez l'homme.

En outre, les données épidémiologiques peuvent être, selon un autre scientifique, complétées par la compréhension des effets similaires sur les animaux sauvages ou de ferme.

2.2 Exposition

2.2.1 Agent exogène

Notion présente dans toutes les définitions sauf celle de l'Endocrine Society (2009), la notion d'agent exogène permet d'affiner la provenance des substances considérées comme PE ; ce peut donc être des agents chimiques, biologiques, *etc.*, d'origine naturelle ou artificielle, excluant ainsi les hormones endogènes.

2.2.2 Fenêtre d'exposition

La prise en compte des fenêtres d'exposition rassemblent les personnes auditionnées. Lors de la période prénatale se pose la question des substances traversant la barrière placentaire. Par ailleurs, les stades du développement embryonnaires particulièrement critiques (ceux qui correspondent à la mise en place des systèmes nerveux, cardiovasculaire, immunitaire...) doivent être considérés. L'exposition *in utero* est la plus citée, mais d'autres fenêtres d'exposition sont également évoquées telles que les périodes post-natale et pubertaire. Cette notion appelle à la prise en compte, dans les protocoles d'exposition, de la gestation et la différenciation pré et postnatale des effets.

2.2.3 Effet cocktail (Effet des mélanges)

La réalité de l'exposition, d'après les personnes auditionnées, correspond à une contamination multiple. Ceci interroge sur l'effet cocktail. Si certains évoquent l'additivité ou la synergie des effets des substances, d'autres ont tendance à discuter les effets des combinaisons et soulignent la nécessité d'acquérir de nouvelles connaissances. Selon certains l'exposition à une substance a des effets différents selon les autres substances auxquelles le sujet est exposé. Cependant, le débat est vif sur les cocktails à tester : faut-il tester les formulations ? Les substances synthétiques seulement ou celles naturelles également ? Les molécules actives ? Ou les cocktails prenant en compte l'ensemble des molécules auxquelles l'Homme est exposé (contaminants de l'alimentation, contaminants environnementaux, etc.) ? Ce concept de prise en compte de l'ensemble des contaminants auxquels les humains sont confrontés peut-il être considéré de manière réaliste ?

2.2.4 Voie d'exposition

Les voies d'exposition ne sont pas détaillées par toutes les personnes auditionnées. Les voies d'exposition citées sont les voies orale, respiratoire et cutanée, avec, pour chacune, la conscience que les niveaux d'exposition et les effets diffèrent selon la voie. L'alimentation est considérée parmi les voies dites environnementales dans une optique de nécessaire renouvellement de la manière de mesurer l'exposition. Pour nombre de pesticides, le caractère perturbateur endocrinien a été étudié dans le cadre d'expositions professionnelles. Les associations sont particulièrement présentes sur cette question, par leur proximité aux problématiques d'intérêt des consommateurs et leur analyse de l'exposition par l'intermédiaire de produits de la vie courante.

2.3 Remise en question des outils et méthodes d'évaluation du risque

2.3.1 Relation dose-réponse et faibles doses

Il n'y a pas de consensus parmi les personnes auditionnées concernant la remise en cause par les PE du paradigme de la toxicologie (principe de Paracelse « la dose fait le poison »). Les organisations impactées par la réglementation ou à l'origine de celle-ci appellent à continuer les recherches sur ces points avant de statuer sur leur bien-fondé, alors que pour d'autres (des scientifiques et des associations), les effets à faibles doses et les relations dose-réponse non-monotones sont à considérer, voire avérés.

Il se dessine un spectre de positionnement vis-à-vis de la remise en question du principe de Paracelse, en particulier des relations dose-réponse non monotones. Si tous en parlent, les propos de certaines personnes auditionnées sont nuancés par des conditionnels et l'appel à approfondir les recherches sur le sujet, là où d'autres considèrent comme acquise la remise en question de ces principes en se référant soit à des démonstrations pratiques issues d'expériences qu'ils ont eux-mêmes réalisées, soit à diverses publications. Il est intéressant de noter que pour certains, le paradigme de la toxicologie traditionnelle a déjà volé en éclat alors que pour d'autres leur regard de toxicologue les pousse au scepticisme face à cette non monotonie des courbes doses/réponses. Le rejet de la possibilité d'une courbe non monotone ne va pas de pair avec le rejet de la possibilité d'une action à très faible dose. Ainsi tous s'accordent à dire que plus de

recherches sont nécessaires à très faibles doses. De plus, un auditionné souligne le problème posé par l'augmentation de la variabilité des résultats à doses très faibles.

2.3.2 Précision de la mesure de l'exposition

Les personnes auditionnées soulignent le manque d'information sur le niveau des expositions survenant à différentes périodes de la vie utérine, périodes critiques face aux PE. Pour combler ce manque, l'une d'entre-elles met en avant l'utilisation de techniques de biomonitoring. Ensuite se pose la question des temps et fréquences d'exposition à croiser avec les effets d'une molécule. Mais la mesure de l'exposition demeure compliquée pour les personnes auditionnées, particulièrement liée à la notion de fenêtre d'exposition et aux conséquences qu'elle pourrait avoir sur le développement potentiel d'effets adverses.

2.3.3 Temps d'observation

Les effets transgénérationnels des PE sont évoqués par des personnes auditionnées. Questionnée, affirmée, recherchée, prise en compte ou non par les évaluations actuelles, cette question de la latence entre l'exposition et le temps d'observation des effets divise sur les tests à effectuer et la nécessité ou non de réaliser des études à long terme pour déceler les effets chroniques et les effets à long terme ou transgénérationnels. Peut-on déceler, par exemple, des effets reprotoxiques uniquement en introduisant de nouveaux paramètres au niveau de la première génération et anticiper de cette façon des effets sur la descendance, ou a-t-on besoin d'une deuxième génération ? Peut-on extrapoler à partir des observations à court terme pour tirer des conclusions sur les effets à long terme ? Les oppositions sur ces points sont radicales – pour certaines des personnes auditionnées cette extrapolation est possible, pour d'autres elle n'est en aucun cas scientifiquement robuste. Sur ce point donc, les avis sont divergents également quant à la réalité de ces effets dans le temps et seuls deux personnes auditionnées avancent des publications, notamment (Salian, Doshi *et al.* 2009) et (Kalfa, Paris *et al.* 2011), à l'appui de ces arguments.

2.3.4 Extrapolation : animal/Homme – cellule/organisme

Sur la possibilité d'extrapoler les résultats des études chez l'animal à l'Homme, les personnes auditionnées sont partagées. La plupart des scientifiques et les associations affirment que l'extrapolation est possible et qu'il faut partir de la littérature sur les animaux pour juger des effets des PE sur les humains. Ils proposent d'affiner, selon les cibles, les choix des espèces animales d'expérimentation, lorsqu'un signal est détecté.

En revanche, pour d'autres personnes auditionnées, la transposition est extrêmement difficile, encore plus pour les perturbateurs endocriniens que pour d'autres catégories de substances qui relèveraient plus de la toxicologie classique. Dans le même sens, un scientifique défenseur des méthodes alternatives d'évaluation remet en doute le caractère systématique de la pertinence des extrapolations inter-espèces y compris des extrapolations de l'animal à l'Homme. La variabilité inter-espèce est assez importante, car d'une espèce à une autre le niveau de corrélation entre les effets reproductifs d'une même substance serait de 50 – 60%. En outre, les tests *in vivo* rendraient ainsi plus difficile la compréhension des mécanismes d'action des substances et augmenteraient l'effet « boîte noire » par le fait de mobiliser un niveau biologique complexe, celui de l'individu. Cette argumentation est accompagnée de celui d'une défense des méthodes alternatives d'évaluation, notamment *in vitro* et si possible sur du matériel humain, pour des raisons d'éthique⁵ et d'efficacité.

⁵ *i.e.* réduire le recours aux tests sur animaux et ainsi utiliser le moins d'animaux de laboratoire possible

2.3.5 Imputabilité et facteurs confondants

La relation causale entre les effets évoqués et les PE n'est pas évidente, surtout au niveau épidémiologique. Les personnes auditionnées discutant ce point estiment être face à des hypothèses qui nécessitent une confirmation pour établir la causalité, ce qui est pourtant difficile dans un contexte de manque aigu de données sur les expositions, notamment chroniques. À ceci s'ajoute la multifactorialité des effets observés qui rend difficile l'identification de la part propre des PE. Par ailleurs, les effets des PE évoqués ne sont pas toujours spécifiques, rendant délicat l'attribution d'une causalité. Enfin des facteurs confondants tels que l'alimentation, des facteurs socio-économiques sont également cités comme obstacle à la mise en évidence d'une relation causale à l'échelle populationnelle. Pour certaines personnes auditionnées néanmoins, les analogies avec des effets observés sur des populations animales sauvages, ou dans des contextes différents tels que celui lié à la viande aux hormones, sont utiles pour aborder la question de la causalité.

2.3.6 Pertinence et poids de la preuve fourni par les différents tests

Face aux difficultés inhérentes aux études épidémiologiques mentionnées plus haut, l'identification des substances et des mécanismes semble devoir passer par un système de tests sur lesquels les personnes auditionnées sont en désaccord.

Le niveau de preuve fourni par les tests *in silico* et *in vitro* n'est pas le même pour tous les personnes auditionnées. Là où pour certains ces tests représentent le premier niveau d'identification des PE qui permet d'affiner les protocoles et les choix de tests suivants, pour d'autres ces tests n'ont pas de valeur et la priorité va aux études *in vivo* couplées à des études épidémiologiques. L'avantage avancé pour les tests *in vitro* et *in silico* (qui est le même pour les tenants d'une batterie exempte d'*in vivo* et pour les tenants d'une combinaison de tous) est leur intérêt en termes de temps, de coûts et de capacité à dépister un nombre important de molécules.

Des auditions, il ressort que les différents types de tests ont différentes fonctions : la validation indéniable des effets sur l'Homme pour les études épidémiologiques, l'identification des effets pour les études *in vivo*, le criblage des substances et la mise en évidence des mécanismes d'action pour les tests *in vitro* et *in silico*. Cependant, deux personnes auditionnées rappellent que les batteries de tests complètes sont lourdes à mettre en place, alors que pour une autre personne auditionnée, chaque test supplémentaire contribue à augmenter le niveau de la preuve.

2.3.7 Modalités de validation des études

Les personnes auditionnées ont une vision divergente des modalités de validation des résultats. D'abord se pose la question de la reproductibilité et donc de la confirmation des résultats par des équipes différentes, ce qui, pour l'industrie, n'est pas toujours avéré. Également se pose la question du respect des Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) et de la validation préalable de la méthodologie des tests entrepris ainsi que le processus de revue par les pairs auxquels ils sont ou non soumis.⁶

⁶ Ces aspects, évoqués ici par les auditionnés, sont discutés également dans la partie conclusive par les membres du sous-groupe.

2.4 Propositions d'actions

2.4.1 Recherche

Toutes les personnes auditionnées ont évoqué des actions de recherche à favoriser pour trois objectifs distincts : prioriser les sujets, harmoniser les méthodes d'étude et favoriser les différentes dimensions de la coopération dans le monde de la recherche.

2.4.1.1 Priorisation

Des priorités de recherche sont évoquées par les personnes auditionnées. Face à l'ampleur des recherches à effectuer, tous évoquent le besoin d'une hiérarchisation. Ensuite au sein de ces priorités de recherche, des préoccupations spécifiques aux PE sont mises en avant, notamment les expositions prénatales et leurs conséquences ainsi que les effets potentiels à faibles doses. Un renforcement de la recherche est aussi envisagé pour améliorer les données d'exposition, et renforcer la biosurveillance. Enfin, dans un souci d'anticiper un cadre réglementaire, un auditionné propose le développement d'une méthode de classification des PE entre *high* (haute) et *low-concern* (basse préoccupation). Cette proposition n'est cependant pas évoquée par les autres personnes auditionnées.

2.4.1.2 Harmonisation des méthodes

Un des représentants des organisations interrogées propose la rédaction d'un document guide. Cela correspond assez bien aux propositions faites par les autres personnes auditionnées quant à l'harmonisation des protocoles d'études (pour permettre entre autres une meilleure comparaison des études entre elles). Il est aussi évoqué la nécessité de mettre en œuvre des activités de criblage (*screening*) par voie d'exposition, ainsi que de travailler à une méthodologie permettant de renseigner les effets à faibles doses, prenant en compte les fenêtres d'exposition et les effets cocktails. Ces propositions sont avancées par les mêmes qui se disent préoccupés par ces thèmes (cf paragraphes précédents). Par ailleurs, on note qu'une validation internationale des méthodes de test est demandée par les personnes auditionnées qui participent à la recherche ou à la mise en place des protocoles internationaux.

2.4.1.3 Coopération

La coopération est citée par tous, sous différents angles selon les personnes. D'abord la coopération entre recherche et action politique et entre recherche et industrie.

Ensuite il est souligné l'importance de mutualiser les efforts de recherche, en favorisant la coopération internationale, pour un partage des ressources et des tâches. Enfin il est évoqué le dialogue entre les disciplines notamment avec les sciences sociales, pour, par exemple, dresser des *scenarii* d'actions politiques, économiques et sociales.

2.4.2 Règlementation

Les discussions autour de la réglementation concernant les PE ont fait ressortir deux enjeux importants : un cadre réglementaire adapté et les lignes directrices sur lesquelles se baser pour tester les substances, dans une visée réglementaire⁷.

S'agissant du cadre réglementaire, certains appellent à une mise en cohérence et à un renouvellement du système réglementaire de classification des substances en fonction de leurs propriétés toxicologiques, et en particulier de la classification CMR, pour y inclure les PE. Certains vont même jusqu'à dénoncer l'excès de simplicité des classifications actuelles. À une échelle plus large, les associations réclament la mise en œuvre d'une politique environnementale intégrée au niveau Européen. Par contre, les acteurs de l'industrie souhaitent inscrire le traitement des PE

⁷ Lignes directrices de l'OCDE.

dans le cadre réglementaire actuel selon les catégories spécifiques préexistantes (biocides, produits de protection des plantes). C'est également le cadre existant qu'ils veulent voir déployer pour améliorer les connaissances sur les produits.

S'agissant des lignes directrices, à la différence des acteurs de l'industrie, les autres personnes auditionnées avancent plutôt la nécessité de réviser les procédures d'établissement et de révision de ces lignes, et de revoir celles des essais toxicologiques réglementaires. Elles vont jusqu'à souligner l'absence totale de réglementation (pas de test réglementaire obligatoire par exemple).

Nombreuses sont les personnes auditionnées qui parlent d'un besoin de renouvellement des méthodes d'évaluation réglementaire de la toxicité dans le cas des PE. Allant jusqu'à parler d'un changement de paradigme ou à taxer la science réglementaire actuelle de « troglodyte », une révision des tests est proposée pour prendre en compte les spécificités des PE, voire même d'autres substances (comme les OGM).

Cependant, les personnes auditionnées actrices dans le champ de la science réglementaire au niveau international soulignent les difficultés dans le renouvellement ou l'ajustement des tests réglementaires. Les évolutions sont entravées par un manque de ressources et un manque de connaissances quant aux protocoles de renouvellement. Plus précisément, l'ambiguïté des modalités de renouvellement et la faiblesse des ressources inhibent la procédure mise en place au sein de l'organisation en charge de ces réglementations. La dynamique d'évolution des procédures étant nourrie par les propositions des Etats membres de l'OCDE, le renouvellement, en l'absence de telles propositions, s'étale dans le temps. Ceci explique le temps, parfois long, nécessaire à l'adaptation des tests aux nouvelles problématiques comme les PE. En revanche, tous s'accordent pour envisager une harmonisation des pratiques et des validations des tests des substances à l'échelle européenne, voire internationale.

2.4.3 Substitution

2.4.3.1 Problèmes posés par la substitution

La substitution n'est pas présentée comme une solution sans problème par les personnes auditionnées qui l'évoquent. Mis à part ceux qui estiment que les solutions existent déjà et sont utilisables, tous soulignent les incertitudes qui planent sur les substances de remplacement. Ils appellent donc à les soumettre aux mêmes recherches que les substances initiales. Par ailleurs, les industriels soulignent que la mise en œuvre de sanctions à un horizon temporel proche n'a de sens qu'une fois les solutions de substitution suffisamment avancées. L'établissement de contraintes temporelles et de sanctions précoces par la réglementation est problématique. Ils estiment que l'aboutissement de la recherche de solutions doit être préalable aux mesures de sanction.

2.4.3.2 Leviers de substitution

Les leviers de substitution sont multiples. Si la plupart des personnes auditionnées s'appuient sur la réglementation, les représentants des organismes du secteur industriel ainsi que certains chercheurs soulignent l'importance de la pression et des attentes sociétales sur les entreprises et leurs stratégies de substitution. Ils citent donc comme leviers les approches volontaires déployées pour la recherche de solutions en amont de la réglementation et louent ce modèle qui contourne la sanction réglementaire.

2.4.4 Information

Seules les organisations (associations, organisation internationale, organisation professionnelle) ont évoqué la nécessité d'informer le public sur les dangers, les incertitudes et les recherches en cours liées aux PE. Tous s'accordent sur le besoin d'améliorer la transparence vis-à-vis du consommateur.

Les représentants des associations de la société civile ont abordé la question de l'étiquetage des produits : pour deux d'entre eux c'est une solution souhaitable pour une meilleure information du consommateur, avec même l'idée, pour l'une des associations, de créer un pictogramme PE. La troisième considère cependant que cette solution ne doit pas être systématique du fait de la multiplication des informations sur les étiquettes et du manque d'efficacité de ces mesures pour la prévention.

Enfin l'une des associations s'est particulièrement penchée sur le volet de l'information par le lancement d'un programme visant à informer les femmes enceintes et les jeunes parents en général sur les risques liés à l'exposition *in utero*, à l'environnement immédiat et aux pratiques à adopter pour prévenir ces expositions. Ce programme a amené à la mise en place d'un portail d'information et de campagnes d'information, mais aussi à des propositions de canaux d'informations tels que les carnets de maternité.

2.4.5 Participation

La participation évoquée par les personnes auditionnées prend différentes formes et niveaux : il s'agit de la participation des parties prenantes au processus d'expertise ; mais aussi des liens des experts avec la société, et enfin des relations entre la recherche scientifique et son contexte sociopolitique.

2.4.5.1 Modes et niveau de participation

La participation d'acteurs de la société civile au processus d'expertise et au débat sociétal n'est pas un sujet évoqué par beaucoup de personnes auditionnées. Néanmoins, ceux qui en parlent évoquent différents niveaux et acteurs de la participation : les parties prenantes (ONG, industriels) et les citoyens.

Il est évoqué l'intérêt de mettre en place une procédure de consultation des parties prenantes ainsi que de la communauté scientifique au sens large (au-delà des membres des comités d'experts).

Par ailleurs, sont déjà menées des actions de plaidoyer par les ONG particulièrement au niveau européen plus que national. Cependant ces possibilités de participation et d'action de la société civile sont conditionnées aux financements et à la reconnaissance de leur statut et de leur expertise. Ainsi le droit de saisine des ONG auprès des agences sanitaires leur paraît primordial, comme reconnaissance de leur rôle dans l'évaluation des risques.

Un des deux représentants d'ONG auditionnés évoque la légitimité des citoyens à se prononcer sur des sujets d'importance comme les PE.

2.4.5.2 Relation entre experts et parties prenantes

Seuls quatre personnes auditionnées se sont exprimées sur ce point. Ceux-là s'accordent pour dire que l'information des parties prenantes est importante mais que ces dernières ne doivent pas influencer de manière directe les experts et les avis des agences. Une nuance est formulée concernant les parties prenantes ayant des compétences scientifiques sans plus de précision sur ce point. En revanche les parties prenantes peuvent contribuer aux propositions d'actions traduisant les recommandations scientifiques.

Par ailleurs la déontologie de l'expertise est évoquée, avec comme but, d'éviter les conflits d'intérêts. Ainsi la séparation entre gestion et évaluation est fondamentale et l'évaluation doit être la plus indépendante possible, d'après les personnes auditionnées.

2.4.5.3 Relation entre la recherche et son contexte sociopolitique

La recherche s'inscrit dans un contexte politique et social par la perception au travers de médias et la perception par les responsables politiques des différentes questions scientifiques. A ceux-ci s'ajoutent les institutions scientifiques qui ont également leur rôle à jouer. Un chercheur auditionné souligne que l'inscription à l'agenda et aux programmes de travail, ainsi que la promotion de l'équipe qui travaille sur ce sujet dépendent directement de la demande sociétale et politique sur

ce sujet. Le rôle du Parlement sur les problèmes de santé publique est donc considéré comme important mais dans le respect de l'expertise rendue par les agences d'évaluation.

La recherche sur les sujets de santé publique comme le PE doit reposer sur des financements publics et indépendants pour les associations. Toujours dans ce sens, un chercheur a affirmé que la recherche académique est « hors d'atteinte face aux pressions réglementaires et à la pression d'établir une réglementation ».

Les découvertes et alternatives possibles scientifiquement sont également soumises aux facteurs et contraintes économiques.

2.4.6 Principe de précaution et niveau de preuve

Le principe de précaution n'est pas souvent cité par les personnes auditionnées, seuls quatre d'entre eux y font référence avec des points de vue divergents suivant une gradation.

Une personne auditionnée se positionne contre le principe de précaution en l'état actuel des connaissances sur les PE, estimant qu'il n'y a pas de base scientifique suffisante actuellement pour l'appliquer.

Un chercheur auditionné évoque le fait que ce principe de précaution n'est pas du ressort des chercheurs et que sans s'y opposer il est réticent à une application « excessive et militante » sans positionner cela par rapport au niveau de connaissances actuel sur les PE.

Enfin deux représentants d'associations s'accordent pour dire qu'il ne faut pas attendre de certitude absolue pour agir et qu'il est essentiel de prendre en compte le principe de précaution sans attendre de niveau de preuve plus élevé. Ils estiment donc que les arguments actuels sont suffisants à son application.

3 Conclusion

3.1 Divergences et convergences sur les composantes de l'évaluation du risque

À la question de l'incertitude autour des PE, aucune personne auditionnée n'a répondu directement en listant, par exemple, les sources d'incertitudes, voire des méthodes visant à la réduire ou la gérer. Il est donc intéressant de noter que les détours à la fois dans les discours et dans les concepts faits par chacune des personnes auditionnées pour expliciter les sources d'incertitudes sont autant de marqueurs de la complexité de cette problématique. En outre, le terme « incertitude » recouvre à la fois le manque de connaissances reconnues et partagées, et les divergences entre les scientifiques ou entre les experts au sens plus large intégrant les parties prenantes. En conséquence, certains de ces aspects ne deviennent « visibles » que par l'analyse comparative des propos de l'ensemble des personnes auditionnées.

Les « détours conceptuels » (faibles doses, effets transgénérationnels, fenêtres d'exposition) ne sont pas spécifiques à la question des PE. De même, les remises en question méthodologiques sont nécessaires ou non, selon les personnes auditionnées, et s'appliquent à cette problématique particulière des PE ou à l'ensemble de la toxicologie réglementaire (remise en question d'un « paradigme »).

Dans la suite de ce paragraphe, nous nous proposons de revenir sur les aspects convergents et divergents des propos des personnes auditionnées et de les discuter au vu des positionnements du GT et des définitions que ce dernier a adoptées.

La diversité des **définitions des PE** admises par les personnes auditionnées construit déjà une divergence pour traiter la question des perturbateurs endocriniens. Selon la définition adoptée, les substances, les effets, les méthodes diffèrent et donc la manière d'appréhender la problématique. Cause ou conséquence des autres sources d'incertitudes, l'absence d'une définition consensuelle pose problème pour la mise en œuvre de la recherche, de l'évaluation des risques, et de l'établissement d'une réglementation. C'est pourquoi le GT perturbateurs endocriniens a consacré une journée entière à la formulation d'une définition des PE rassemblant les experts et sur laquelle est basée la suite du travail.⁸

Les auditions mettent en relief et illustrent des débats autour **des effets à faibles doses et des relations dose-réponse non monotones qui remettent en cause la toxicologie classique et le principe de Paracelse**. Avéré pour certains, discutable pour d'autres, ce concept questionne la définition des doses d'exposition lors des études de toxicologie et remet en question, pour ceux qui le reconnaissent, les résultats d'innocuité obtenus par les méthodes classiques. Avec cette remise en cause du paradigme de la toxicologie avancée par certaines personnes auditionnées, d'autres composantes classiquement admises sont questionnées : **l'extrapolation animal/homme, la pertinence des tests mis en œuvre**, etc. Ce questionnement invite dans le débat des questions portant sur les mesures réglementaires, les actions à entreprendre, les méthodologies générales de recherche, etc.

L'émergence non-controversée dans les propos des personnes auditionnées de la question des **effets des mélanges de substances** est liée, d'une part à la multiplication des sources et des

⁸ Voir Avis de l'Agence du 27 mars 2012.

polluants divers dans les environnements de vie (par exemple : bâtiments, alimentation, eaux) et d'autre part à la complexification de l'identification des substances à l'origine d'un effet. Ainsi sans être spécifique aux PE, cette question revient néanmoins dans les auditions pour exprimer la complexité de la mesure de l'exposition et la diversité des substances en jeu. Débattues, les modalités de **mesure de l'effet cocktail** s'ajoutent aux incertitudes des PE.

Les effets transgénérationnels des PE sont discutés par les personnes auditionnées à différents niveaux. La question de la possibilité d'effets transgénérationnels par des voies épigénétiques fait l'objet d'interrogations scientifiques fortes à l'heure actuelle mais n'est reprise que par trois intervenants. En effet, la question est de savoir si des modifications de l'expression des gènes liées à l'exposition à une substance peuvent se transmettre d'une génération à l'autre sans que l'information génétique contenue dans les séquences nucléotidiques de l'ADN ne soit modifiée. Les mécanismes de transmission sont encore mal connus. La question est apparue avec l'étude des effets du diéthylstilbestrol⁹ (Kalfa, Paris *et al.* 2011 ; Klip, Verloop *et al.* 2002 ; Titus-Ernstoff, Troisi *et al.* 2010). Il est donc assez surprenant que la possibilité d'effets transgénérationnels par des voies épigénétiques ne soit pas plus souvent évoquée en lien avec les mécanismes d'actions à prendre en compte. Ceci révèle une spécificité conceptuelle liée aux effets transgénérationnels invoquée par certaines personnes auditionnées pour appuyer leurs propos et leur argumentaire, mais sur laquelle les connaissances sont encore discutées et incomplètes.

Par ailleurs, certaines personnes auditionnées ont discuté les **modalités de validation des études** sur les PE. On remarque que les modalités citées ne sont pas spécifiques aux PE (revue par les pairs, reproductibilité), mais que se pose également la question de la valeur d'une étude ne respectant pas ces modalités comme signal d'alerte, et, de façon étroitement liée, la mise en œuvre du principe de précaution.

Il est très intéressant d'observer que les mêmes éléments de divergence identifiés dans nos auditions caractérisent la controverse sur les PE depuis longtemps. Ils avaient été déjà mis en évidence, il y a 13 ans, par Sheldon Krinsky, dans son ouvrage publié en 2000. La question qui peut se poser est donc : pourquoi ne sont-ils pas encore résolus ? On constate clairement un enlisement de la controverse, où l'épuisement des arguments et l'usure psychologique - qui peuvent apparaître sur le temps long - est l'enjeu majeur pour les acteurs concernés.

On voit émerger une construction sociale et scientifique des incertitudes, parfois par consensus, sur l'insuffisance des connaissances ou sur le manque de robustesse des méthodes disponibles, autrefois par opposition, autour du paradigme scientifique et les bonnes pratiques associées qui devraient prévaloir. Leur interprétation aboutit à des propositions d'action qui convergent selon, non pas le niveau d'information, mais la représentation de chaque personne auditionnée de la problématique dans son ensemble et son contexte scientifique, politique et économique. La référence des personnes auditionnées au principe de précaution est éclairante. Bien que ce soit un concept clé de la prise de décision sur les PE, ce principe a été peu évoqué. Une raison possible serait l'absence de procédure scientifique bien établie pour son application. Ceci reprend d'ailleurs la séparation entre gestion et évaluation, réclamée par la plupart des personnes auditionnées. Les débats sur le niveau de preuve suffisant ou non, repris, d'une part par des représentants d'associations (qui estiment que les éléments pour son application sont là) et une personne auditionnée (qui estime que l'on manque de bases scientifiques pour l'appliquer), ne font que le souligner. Il est intéressant de noter, dans le même ordre d'idées, que sur des aspects plus scientifiques tels que la méthodologie actuelle (développement de tests adaptés aux PE et

⁹ Apparition d'anomalies du tractus génital dans la troisième génération de femmes ayant reçu du diéthylstilbestrol en cours de grossesse.

acceptés réglementairement), les prises de positions sont plus nombreuses et plus convergentes. De même, la pertinence d'études à faibles doses et l'intérêt pour une possible non-monotonie de la dose-réponse font leur chemin, certes à des rythmes différents, parmi les différentes catégories de personnes auditionnées.

Sans qu'il soit possible de tirer de conclusions générales eu égard au faible nombre de personnes interviewées et de la non-représentativité de cet échantillon, la question des PE, de leurs diverses évaluations (tant sur les aspects méthodologiques, que sur les conclusions) et des éventuelles conséquences à en tirer sur un plan de politique sanitaire traversent divers courants de pensées assez peu concordants, mettant en avant des considérations et/ou des positionnements personnels et/ou professionnels, qui, peu ou prou, recourent les questionnements/débats sociaux et politiques actuels sur ce sujet. L'exemple en est particulièrement illustré avec les diverses attitudes vis-à-vis du « principe de précaution » où les arguments scientifiques avancés par les uns et les autres ne semblent pas ou peu se recouper (absence de preuves - preuves non établies - preuves non nécessaires) augurant d'un débat dépassant alors le champ purement scientifique et s'inscrivant dans le domaine social et de choix d'une régulation.

Ainsi, l'intérêt majeur de ces auditions et de leur analyse, aura été, de montrer que le champ des PE déborde aujourd'hui, largement le champ scientifique propre, s'inscrivant dans un positionnement social, idéologique et politique dont ce travail montre qu'il conviendra très certainement d'en tenir compte.

3.2 Bénéfices, limites et perspectives envisagés

La mise en œuvre d'une telle méthodologie d'exploration des sources d'incertitudes et de leurs représentations est nouvelle à l'ANSES. Marquant à la fois l'ouverture de l'expertise aux parties prenantes, et une diversification des sources de savoirs (liée à la transformation du monde associatif du domaine de la santé-environnement), cette démarche nous permet de tirer un certain nombre d'enseignements sur la tenue et l'exploitation des auditions ainsi que sur les avantages et désavantages de cette méthode.

Un des avantages principaux des interactions avec les parties prenantes – à travers des auditions notamment – est de pouvoir identifier des éléments de réflexion potentiellement intéressants pour le travail des experts scientifiques. En effet, la littérature qui analyse les processus de participation souligne souvent l'importance de la prise en compte de la connaissance de toutes les parties prenantes dans la gestion des processus sociaux associés aux risques environnementaux (Funtowicz et Ravetz, 1990, 1993, Irwin et Wynne, 1996, Wynne, 1996, Kloprogge et Van der Sluijs, 2006). La contribution des acteurs peut aider à mieux comprendre les conditions locales ou particulières, et ainsi à identifier des informations potentiellement pertinentes pour formuler et traiter les questions d'expertise. Dans le cas particulier des PE, nous avons ajouté aux auditions de parties prenantes associatives, institutionnelles et industrielles des auditions de chercheurs dont les rôles et les positions dans la recherche sur les PE couvraient une certaine diversité d'approches scientifiques et revenaient sur les dimensions historiques de la prise en compte de la perturbation endocrinienne par la recherche et le politique.

D'un point de vue méthodologique, la démarche d'identification des personnes auditionnées a été soumise aux contraintes de temps et de ressources disponibles. Par ailleurs, la représentativité n'a pas été un des objectifs de la démarche de recrutement, qui visait notamment à retenir les personnalités dont la capacité d'expression sur la scène publique au sujet des PE était reconnue, ainsi que la diversité et le caractère contrasté des points de vue exprimés.

Il ressort de cette démarche une certaine modération et un manque de contraste des propos et des positions des différentes personnes auditionnées. Là où on attendait un positionnement relatif marqué (voir section 1.1., Contexte), les résultats soulignent l'émergence d'accords et de désaccords propres aux différents thèmes mais pas de manière aussi distincte et polarisée qu'on aurait pu penser.

Il est possible de formuler diverses hypothèses à cette modération : le contexte institutionnel (à l'ANSES, audition par un comité d'experts) de tenue des auditions, la composition des panels auditionnant, l'ouverture même du processus d'expertise à la participation qui peut limiter le caractère contestateur des propos par reconnaissance de la volonté de transparence des institutions (Kloprogge et Van der Sluijs, 2006). Ces constats invitent à considérer les résultats des auditions dans leur contexte, notamment par rapport aux discours émis par ces mêmes acteurs dans d'autres situations d'énonciation (exemple : dans les médias écrits ou en ligne).

Concernant la grille d'entretien, les questions posées étaient semi-directives et n'ambitionnaient pas à obtenir des informations à inclure en tant que telles dans l'expertise réalisée par le groupe de travail. Une partie des questions (1, 2 et 4) visait explicitement à recueillir l'expertise scientifique des parties prenantes (pour comprendre les raisons de la multiplicité et parfois les ambiguïtés des définitions existantes, pour avoir un aperçu des connaissances des parties prenantes sur les effets des PE sur la reproduction et les incertitudes dans leurs évaluations de risques. Les autres questions interrogeaient notamment les modalités d'implication des personnes auditionnées dans les processus sociaux et politiques engagés autour des risques des PE (et en particulier du BPA), notamment au regard des actions à prendre en réponse aux signaux indiquant des risques des PE et des contributions des diverses parties prenantes à ces actions.

Dans le cas présent, l'analyse des auditions permet de développer une première compréhension des sources d'incertitude telles qu'elles sont perçues par les parties prenantes, l'incertitude étant, ici, synonyme d'absence de connaissances, mais aussi de connaissances qui sont en débat, voire controversées. Dans ce sens, les arguments en contradiction autour des diverses composantes de l'évaluation du risque des PE (à savoir, le mécanisme d'action, la relation dose-effet ou dose-réponse, le temps d'observation, les modalités d'extrapolation, la précision de la mesure de l'exposition, le rôle donné aux divers tests et études, en particulier épidémiologiques, les modalités d'évaluation de la qualité et de validation des études) peuvent être considérées comme étant une expression de l'incertitude autour de ces éléments. Il devient important pour le groupe d'experts, à partir de cette analyse, de les aborder de façon explicite dans l'analyse ultérieure des incertitudes qui sera associée à l'évaluation des risques d'autres perturbateurs endocriniens.

En outre, impliquer les parties prenantes dans le processus d'évaluation du risque peut contribuer à améliorer la transparence du travail d'expertise scientifique par la prise en compte de différentes sources de savoirs et de différents points de vue et en permettant d'engager la discussion avant la communication de ses résultats.

Ainsi, il est possible de tirer de ce travail différentes leçons et perspectives. Sur l'amélioration de la méthodologie, cette expérience nous a permis d'éprouver le temps nécessaire et les imprévus liés à la méthode. Pour l'améliorer, il pourrait être intéressant de disposer d'un retour des personnes auditionnées sur l'analyse pour établir un dialogue avec les experts et les autres parties prenantes. Cette première expérience nous a également permis de mieux appréhender l'articulation entre des travaux de ce genre et les démarches plus habituelles déployées à l'ANSES de caractérisation des incertitudes. Sur ce point, la démarche d'explicitation de la construction sociale de l'incertitude, mise en évidence dans ce document, a permis de nourrir le travail de qualification et quantification des incertitudes. De façon concrète, le travail simultané des experts sur ces deux volets a favorisé la prise en compte et surtout la mise en avant des dimensions des incertitudes, soulignées dans

les auditions, dans la qualification et la quantification des incertitudes en collaboration avec le sous-groupe exposition. Cette approche originale de rapprochement entre des démarches historiquement distinctes devrait contribuer à l'enrichissement des disciplines impliquées dans la caractérisation des incertitudes liées à l'évaluation des risques sanitaires.

4 Bibliographie

Anway, M.D., Cupp, A.S., Uzumcu, M., Skinner, M.K. (2005) Epigenetic Transgenerational Actions of Endocrine Disruptors and Male Fertility. *Science* **308**(5727), 1466-1469.

Beronius, A., Ruden, C., Hakansson, H., Hanberg, A. (2010). Risk to all or none? A comparative analysis of controversies in the health risk assessment of Bisphenol A. *Reproductive Toxicology*, 29 (2) :132–146.

Chalas, Y. Gilbert, C. et Vinck, D. (2009). Comment les acteurs s'arrangent avec l'incertitude. Editions des archives contemporaines, Paris.

Chateauraynaud, F., Debaz, J., Fintz, M. (2011). La dose fait-elle toujours le posion ? Une analyse sociologique des mondes de la recherche et de l'expertise à l'épreuve des faibles doses. Rapport GSPR-EHESS-ANSES, 35 pp.

Craye, M., Funtowicz, S. (2005) A reflexive approach to dealing with uncertainties in environmental health risk science and policy. *Int. J. Risk Assessment and Management* **5**, Nos. 2/3/4.

Funtowicz, S.O., Ravetz, J.R. (1990). Uncertainty and quality in science for policy. Dordrecht: Kluwer, 229 pp.

Funtowicz, S.O., Ravetz, J.R. (1993). Science for the post-normal age. *Futures*, 25(7):735–55.

Giwerzman, A., Bonde, J.P. (1998). Declining male fertility and environmental factors. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* **27**(4), 807-830.

Greim, H.A. (2004). The Endocrine and Reproductive System: Adverse Effects of Hormonally Active Substances? *Pediatrics* **113**(Supplement 3), 1070-1075.

Hellström, T. (1996). The Science–Policy dialogue in transformation: model-uncertainty and environmental policy. *Science and Public Policy*, 23(2):91–97.

Herbst, A.L., Ulfelder, H., Poskanzer, D.C. (1971). Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. *New England Journal of Medicine* **284**(15), 878-881.

Irvine, D.S. (2001). Changing Male Reproductive Health: A Review of the Clinical Evidence? *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* **7**(5), 1003-1016.

Irwin, A. et Wynne, B. (eds.) (1996). Misunderstanding science ? The public reconstruction of science and technology. Cambridge University Press.

Kalfa, N., Paris, F., Soyer-Gobillard, M.O., Daures, J.P., Sultan, C. (2011). Prevalence of hypospadias in grandsons of women exposed to diethylstilbestrol during pregnancy: A multigenerational national cohort study. *Fertility and Sterility* **95**(8), 2574-2577.

Kaufman, R.H., Binder, G.L., Gray, P.M. Jr., Adam, E. (1977). Upper genital tract changes associated with exposure in utero to diethylstilbestrol. *Am J Obstet Gynecol* **128**(1), 51-9. [In eng]

Keynes, J.M. (1996). *Treatise on Probability*. Collected Writings, vol 8. Cambridge University Press, New York, NY, USA. First published in 1921

Klip, H., Verloop, J., Van Gool, J.D., Koster, META, Burger, C.W., Van Leeuwen, F.E. (2002). Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol in utero: A cohort study. *Lancet* **359**(9312), 1102-1107.

Kloprogge, P. et Van der Sluijs, J.P. (2006). The inclusion of stakeholder knowledge and perspectives in integrated assessment of climate change. *Clim. Change*, 75: 359–89

Knight, F. (2006). *Risk, Uncertainty and Profit*. Dover Publications, Mineola, New York, USA. First published in 1921 by the Houghton Mifflin Company, New York, NY, USA

Krimsky, S. (2000) *Hormonal Chaos. The Scientific and Social Origins of the Environmental Endocrine Hypothesis*. The John Hopkins University Press, Baltimore, MD, USA

Kuhn, T., (1962). *La structure des révolutions scientifiques*. Editions Flammarion, Champs sciences, Paris.

Maxim, L. et Van der Sluijs, J. (2007). Uncertainty : cause or effect of stakeholders' debates ? Analysis of a case study : the risk for honeybees of the insecticide Gaucho®. *Science of the Total Environment*, 376(1-3) : 1-17.

Maxim, L. et Van der Sluijs, J. (2011). Quality in environmental science for policy : assessing uncertainty as component of policy analysis, *Environmental Science and Policy*, 14(4) : 482–492.

Michaels, D. (2005). Industry groups are fighting government regulation by fomenting scientific uncertainty. Doubts is their product. *Scientific American*, 96–101.

Negro-Vilar, A. (1993). Stress and other environmental factors affecting fertility in men and women: Overview. *Environmental Health Perspectives* **101**(SUPPL. 2), 59-64.

Nicolopoulou-Stamati, P., Pitsos, M.A. (2001). The impact of endocrine disrupters on the female reproductive system. *Human Reproduction Update* **7**(3), 323-330.

Oliva, A., Spira, A., Multigner, L. (2001). Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Human Reproduction* **16**(8), 1768-1776.

Oreskes, N. et Conway, E. (2010). *Merchants of doubt. How a Handful of Scientists Obscured the Truth on Issues from Tobacco Smoke to Global Warming*. Bloomsbury Press, New York.

Ramsey, M.H. (2009). Uncertainty in the assessment of hazard, exposure and risk. *Environ Geochem Health* **31**, 205-217.

Ravetz, J.R. (1999). What is post-normal science. *Futures* **31**(7), 647-653.

Refsgaard, J.C., van der Sluijs, J., Højberg, A.L., Vanrolleghem, P.A. (2007). Uncertainty in the environmental modelling process - A framework and guidance. *Environmental Modelling and Software* **22**(11), 1543-1556.

Ruden, C. (2001). Interpretations of primary carcinogenicity data in 29 trichloroethylene risk assessments. *Toxicology*, 169 : 209–225

Salian, S., Doshi, T., Vanage, G. (2009). Perinatal exposure of rats to Bisphenol A affects the fertility of male offspring. *Life Sciences* **85**(21-22), 742-752.

Silverman, D. (2011). Interpreting qualitative data. A guide to principles of qualitative research. 4th edition. Los Angeles, New Delhi, Singapore, Washington DC: Sage Publications.

Sonnenschein, C., Soto, A.M. (1998). An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **65**(1-6), 143-150.

Titus-Ernstoff, L., Troisi, R., Hatch, E.E, Palmer, J.R., Hyer, M., Kaufman, R., Adam, E., Noller, K., Hoover, R.N. (2010). Birth defects in the sons and daughters of women who were exposed in utero to diethylstilbestrol (DES). *Int J Androl* **33**(2), 377-84. [In eng]

Toppari, J., Larsen, J.C., *et al.* (1996). Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environmental Health Perspectives* **104**(SUPPL. 4), 741-803.

Van Asselt, M.B.A. et Rotmans, J., (2002). Uncertainty in integrated assessment modelling. From positivism to pluralism. *Climatic Change*, 54: 75-105.

Van der Sluijs, J.P. (1997). Anchoring amid uncertainty; on the management of uncertainties in risk assessment of anthropogenic climate change. Ph.D. Thesis. Universiteit Utrecht, 260 pp.

Van der Sluijs, J.P. (2006). Chapter 2.1. Uncertainty, assumptions, and value commitments in the knowledge base of complex environmental problems. In: Guimarães Pereira Â, Guedes Vaz S, Tognetti S, editors. *Interfaces between science and society*. London: Greenleaf. p. 67–84.

Verdonck, F.A., Souren, A., van Asselt, M.B., Van Sprang, P.A., Vanrolleghem, P.A. (2007) Improving uncertainty analysis in European Union risk assessment of chemicals. *Integrated Environmental Assessment and Management* **3**(3), 333-343.

Vogel, S.A., (2009). The politics of plastics : the making and unmaking of bisphénol A « safety ». *American journal of public health*, 99(S3) :S559-S566.

vom Saal, F.S., Hughes C., (2005). An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environmental Health Perspectives*.

113(8):926–933

Walker, W.E., Harremoës, P., Rotmans, J., Van der Sluijs, J.P., Asselt, M.B., Janssen, P., Krauss, M.P. (2003). Defining Uncertainty A Conceptual Basis for Uncertainty Management in Model-Based Decision Support. *Integrated Assessment* **4**, No. 1, 5–17.

Wynne, B. (1996). May the sheep safely graze? A reflexive view of the expert–lay divide Risk Environment and Modernity: Towards a New Ecology ed S Lash, B Szerszynski and B Wynne (London: Sage) pp 44–83

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



Le Directeur général de la santé
BA4 N° 220

Paris, le - 4 JUN 2009

COURRIER REÇU LE

08 JUN 2009

2186

Monsieur le directeur général
Agence française de sécurité sanitaire
de l'environnement et du travail
253, avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex

Objet : Substances reprotoxiques et perturbateurs endocriniens.
N/Réf : 090018 (numéro de dossier à rappeler dans toute correspondance)

Les données scientifiques semblent mettre en évidence dans les pays industrialisés une baisse de la fertilité chez l'homme depuis une vingtaine d'années. Ces évolutions préoccupantes sont souvent attribuées à la pollution chimique de notre environnement.

L'action de certaines substances chimiques sur la reproduction ou sur les organes de la reproduction peut être due soit à une action directe reprotoxique qui peut affecter l'adulte, le jeune enfant, l'embryon ou le fœtus lors de son développement prénatal, soit à une action hormono-mimétique (*estrogen- or androgen-like s*) lorsque ces substances sont des perturbateurs endocriniens.

Dans ce contexte de préoccupations tant pour le public que pour les autorités sanitaires, j'ai saisi l'INSERM pour la réalisation d'une expertise collective visant notamment à répertorier sous six mois les substances reprotoxiques préoccupantes, à décrire les différents effets reprotoxiques sur le développement ou la fertilité connus et leurs mécanismes, à analyser les facteurs de risque chez l'enfant et l'adulte en identifiant en particulier les périodes de la vie les plus sensibles en termes d'exposition et à analyser les tests *in vitro* et *in vivo* actuellement mis en œuvre, au niveau réglementaire ou au stade de la recherche, pour détecter ces effets. L'AFSSET est associée à cette expertise.

Sur la base de la liste des substances reprotoxiques établie dans le cadre de cette expertise de l'INSERM, je souhaite que vous poursuiviez dans votre champ de compétence ces travaux d'expertise afin de déterminer s'il existe aujourd'hui des produits destinés au grand public contenant de telles substances, de quantifier leurs utilisations, les niveaux d'exposition qui en résultent et de procéder à une évaluation bénéfices/risque. L'AFSSA et l'AFSSAPS seront saisies de la même manière dans leur champ de compétence.

Je souhaite par ailleurs que votre agence assure la coordination générale des travaux de ces différents organismes afin de produire une évaluation globale des expositions et des risques et

1

de proposer, si nécessaire, le renforcement de certaines préconisations d'usage. A cet effet, vous voudrez bien en particulier, parmi ces produits :

- Identifier ceux d'entre eux contenant ces substances ou susceptibles d'être concernés ;
- Sélectionner ceux à étudier en priorité ;
- Analyser et si possible quantifier des voies d'exposition de la population générale à ces substances en précisant les sources directes et indirectes, et incluant des populations vulnérables et les personnes en milieu de travail ;
- Envisager des substitutions.

S'agissant du domaine des résidus de médicaments dans les eaux, je vous indique qu'il a déjà fait l'objet de ma part d'une demande d'expertise auprès de l'AFSSA et de l'AFSSAPS. Par ailleurs, un plan d'actions relatif aux résidus médicamenteux dans les milieux est en cours d'élaboration conjointement par la Direction Générale de la Santé et la Direction de l'Eau et de la Biodiversité du MEEDDAT. Si une saisine est nécessaire sur ce thème, elle sera élaborée en concertation entre les deux ministères en cohérence avec le plan d'action sus mentionné.

Le Directeur Général de la Santé,



Pr Didier HOUSSIN

Annexe 2 : Liste des personnes auditionnées¹⁰

- (1) Pierre Jouannet
- (2) Laurence Musset et Nathalie Delrue
- (3) Thomas Hartung
- (4) Gilles-Eric Séralini
- (5) Ana Soto
- (6) Jorma Toppari
- (7) Sandrine Blanchemanche et Laura Maxim
- (8) Rémi Bars
- (9) Patrick Lévy
- (10) André Cicolella et Gilles Nalbone
- (11) Olivier Andrault
- (12) Anne Barre et Elizabeth Ruffinengo

¹⁰ Les titres des personnes sont disponibles dans la rubrique « auditions de personnalités extérieures »

Annexe 3 : Comptes rendus synthétiques des auditions réalisés par les experts du sous-groupe incertitudes et société

Compte Rendu de l'Audition d'Ana Soto

Audition réalisée à l'Anses le 13 septembre 2010

Regulatory science, in general, tends to go the opposite way of the way it should go. As a physician, I think in a totally different way than as a researcher. As a researcher, I am never sure of anything, and I know that things change with time. In medicine, you get someone bleeding in the hospital, you do not think much, you just stick a line, pump blood, and think afterwards, because there is no time to think.

In epidemiology when one is trying to assess whether a new pharmacological agent is good for a certain treatment, one has to be very stringent. For this reason, one adopts as default the null hypothesis. When you are trying to see if a chemical is causing reproductive damage, I think that it should be the opposite. The default hypothesis should be that it does cause reproductive damage because there is no situation when you won't have bias and the way you do epidemiology, from the view point of pharmacology, has a bias, which is towards no effect.

So, I think endocrine disruptor is a chemical that interferes with any aspect of endocrine regulation. However, I accept the Kavlock-EPA definition, as this is the standard one in the US. Then I am going to talk about developmental plasticity, then about the fetal xenoestrogen syndrome, then carcinogenesis, and perinatal xenoestrogen exposure and breast cancer, and then I will draw conclusions and implications.

As you see, this is all new science. Developmental plasticity was discovered in 1880 but it wasn't paid much attention to in the past 50 years because people were thinking that development is controlled by a "program" contained in the DNA .

The term "endocrine disruptors" was coined at the Wingspread Conference (1991); I was one of the twenty participants. The reason I was there is because Carlos Sonnenschein and I discovered that nonylphenol was an estrogen. We were there because the international joint commission that oversees the purity of waters in the Great Lakes basin was concerned because animals in that area were having an assortment of "interesting" phenotypes that did not bode well for them, like birds with two oviducts, etc. They looked feminized. The idea is, do we sit and wait until the DDT and PCBs totally disappear from the ecosystem, or is there something else going on? We examined the evidence and concluded that a large number of chemicals that had been released into the environment have the potential to disrupt the endocrine systems of animals, including humans.

Regarding the Kavlock definition of endocrine disruptors, I think that if something is disrupting the endocrine system, obviously it will likely have reproductive, developmental and behavioral consequences if you apply it in the right doses. It is clear that some of those chemicals, like atrazine which affects aromatization, produce effects that are similar to what you would get with a large dose of estrogen.

When we started working in the field of xenoestrogens, we knew that DDT, methoxychlor and kepone were estrogenic, and we discovered that the dieldrin, toxaphene, endosulfan and lindane were also estrogenic. And of all the antioxidants, we found that alkylphenols (we discovered

nonylphenol in plastic) and butyl-hydroxy-anisole are estrogenic. I don't know if you still use it in Europe, but in the States it was used as an antioxidant in foods like cereals. .

I found it quite puzzling that bisphenols and alkylphenols were known to be estrogenic in the 1930s, and wonder why people have to use them to make plastic. Ok, it's estrogen, it's weak, let's make plastic with it. Anyways, disinfectants like o-phenyl-phenol are also estrogenic; it is used as a fungicide for citrus fruits, and is the most widely used surface disinfectant.

I am talking mostly about estrogens, but some endocrine disruptors are anti-androgens, and others interfere with thyroid action. So the problem does not end there. There are chemicals that inhibit or stimulate hormone metabolism, etc. The endocrine disruptor problem is very complex. It becomes more complex because since the inception of the molecular biology revolution, we were told and had hammered into our brains that development is a genetic problem contained in the DNA and so therefore, the environment doesn't play any role. In this view of development, the mother is a fetal incubator - she protects the fetus from the environment. On the contrary, as shown more than 100 years ago, development is an open system, and developmental plasticity is the rule. Therefore, there is no doubt that what is going on in the environment co-determines the phenotype with whatever is inside us and we know that since polyphenisms (one genotype-various phenotypes) were discovered in 1880, the environment has an important role in making us what we are. The mother is the fetal environment, and of course is not separated from the environment at large.

This old tradition, ecological developmental biology, did not get into medicine and public health until epidemiological studies revealed that people who were born to mothers who have undergone severe malnutrition during the Second World War have an increased propensity for developing metabolic syndrome, diabetes and heart disease.

From this example we arrive at the first "paradigm change", which is to move from the notion of a developmental program to ecological evolutionary developmental biology. There is no program or central control, DNA is just one of the components of the system. Genes do not have a privileged causal role. The environment plays the main role in the determination of phenotype, and during development decisions are made at the local level by ad-hoc committees. That is the way it goes. Morphogenesis, the genesis of shape, involves physical forces. In the old days embryology was called "developmental mechanics". Morphogenesis, the generation of shapes, involves mechanics. The form of the tibia is due to muscles contracting during fetal development. It is not imprinted anywhere. It is just muscle contraction that creates it, and this physical determination of shape is the rule. This is the summary of the eco-developmental biology story. The idea behind it is that prenatal environmental cues like temperature or availability of food imprints the phenotype in such a way that the post-natal environment continues being exactly like the prenatal one, you will have a perfect fit, and therefore you will survive. If the environment changes, things may happen otherwise, so you are unlucky. This is the type of thing we work on.

I would like to show another example. In an inbred animal, the DNA is exactly the same in each one of these fetuses. The mother is increasing her chances of passing on her genes by creating phenotypic diversity among genetically identical fetuses. A female placed in the uterus between two females (0 male female, or 0M) and a female placed between two males (2 male female, or 2M) show distinct advantages regarding their ability to reproduce. In a plentiful environment, the 0M female is the winner, whereas in a harsh and crowded environment the 2M female is the winner. This phenomenon illustrates how small differences in hormone levels cause huge differences in behavior. Additionally, in a similar experiment we found out that our 0M and 2M females have morphologically different mammary glands. Even in fetal life you can see that they are significantly different.

Our xenoestrogen model is provided by BPA. At the exposure levels we use, we cannot measure the internal dose, it falls below detectability. In humans the internal dose is about 1-2 nanograms

per ml of blood. To get these blood levels, we need to give our dams a dose of 250 micrograms per kilo.

Finally, I want to tell you that I just learned that nanoparticles applied as a skin lotion were found in the brains and testes of experimental animals. When I listen to toxicologists, I perceive that they are not concerned about this, since the experiment did not measure any “adverse” effects. Do we need to see an effect in order to be worried? Don't you think it is absurd? I don't like to have my neurons full of nanoparticles. Why should anyone have the right to put nanoparticles into my brain? I think we have a right not to have nanoparticles in our brains or in our sons' testicles.

Question

Do we know whether in the CDC study they checked the leakage of BPA from flasks or containers?

Ana SOTO:

I like the standard CDC procedures. I get my package from them with everything I could possibly need, because they aim at avoiding contamination. They will not accept anything done otherwise. Anyway, let's continue because at this rate we will never finish.

I have mentioned the fetal xenoestrogen syndrome. All the endpoints that I mentioned were reported in low dose studies of bisphenol-A. Puberty occurs a couple of days earlier in the conditions described by vom Saal. In his experiment he uses C-section to group animals by intra-uterine positions. Animals exposed in utero presented with altered estrous cyclicity and early cessation of cyclicity, and we know that women that were exposed in utero to stilbene undergo early menopause. This indicates that their hearts are at risk earlier than women who have not been exposed.

'Increased risk of neoplastic development in the prostate and the mammary gland'. The next item, altered reproductive success, is reported in an article we are about to publish. We used a continuous breeding model, rather than performing just one cycle of breeding when the animals are young. The continuous breeding protocol was used to test DES thirty years ago. A breeding pair is observed for 8 months. When the babies are born, they are counted, sexed, and removed from the cage. We also measure time-to-pregnancy and time-to-delivery, and the cumulative number of babies. The curve shows that the positive control, DES, is not as bad in this scheme of things as is 25 micrograms per kilogram of bisphenol-A. We also found significant effects at 25 ng BPA/kg, whereas the difference at 250 ng/kg is not significant. So, again this is a non-monotonic dose-response curve. A small dose has a large effect, a large dose has a large effect, but the intermediate dose does not have a significant effect. This experiment clearly indicates decreased fertility and fecundity. However, these effects are not seen during the first pregnancy, and that is the time at which toxicological tests check. We know from DES studies that reproductive problems appear much later. You have to administer a “truckload” of DES in order to get effects at first pregnancy.

Question

Sorry, what is a dose of DES in this case?

Ana SOTO:

The DES dose we used was 10 ng/kg/day. Among the BPA doses, the one that produces the highest effect is 25 micrograms per kilogram. And 25 nanograms, 1000x less, still produces

significant effects. 25 nanograms is undetectable in serum, 25 micrograms is barely detectable - it was detectable only in 50% of the dams. This brings up the issue of why we use an osmotic pump rather than *per os*. Attempting to achieve a dose of 25 nanograms per kilogram in the food is quite problematic, and gavage is very stressful, so I would not do that to my animals. I am a physiologist and endocrinologist; I suspect that if we use gavage we would be studying stressed animals. This would affect reproduction.

Before I address the studies on carcinogenesis, we have to ask, "What is cancer?" As I said, we are changing paradigms in developmental biology and carcinogenesis. Regarding the former, we are going back to the old days when embryologists had no problems accepting that the environment determines the phenotype. Ten years ago, nobody would talk about this issue, due to the dominance of the "genetic program" idea. Sometimes progress requires going back to the status quo ante! Concepts are also changing with respect to cancer. What you learned in school is that cancer is a cellular phenomenon due to mutations in genes that control cell proliferation (i.e. the somatic mutation theory, SMT). But for the last 20 years there are people who are working on a different idea, that cancer is a disease of tissue organization, akin to histogenesis and tissue remodeling (i.e. the tissue organization field theory, TOFT). You have to contrast these two views because they are totally different and incompatible with each other.

From the perspective of the SMT, BPA is not a mutagen so why should you bother? From the perspective of TOFT, BPA alters development, so you should be bothering.

The idea is, again, "What is a neoplasm?" and the way you diagnose a cancer is using a bright field microscope. You have to do histology; no serious pathologist will do without it. That is how you diagnose it. It is not looking at a mutation in a gene. The Somatic Mutation Theory is the standard. It says that in order to cause cancer an agent has to cause mutations in the DNA of the cells that would become a cancer. In particular, they speak of a single cell, because they say that cancer has a monoclonal origin. It follows that cancer is a problem of mutation in genes that control cell proliferation. Carcinogenesis is a cell-level phenomenon and therefore you can study it in culture using a single cell line. The heritability of the neoplastic phenotype is due to somatic mutations in the DNA of a single cell and carcinogenesis is a problem of the control of cell proliferation, as I said, and the default state of cells is quiescence.

But we know that is not the case, because the default state of bacteria and unicellular organisms is not quiescence. As long as they have nutrients, cells proliferate. So the passage from unicellularity to multicellularity indicates that something had to happen to restrain that inherent ability of cells to proliferate, as taught by evolutionary theory.

So, the Somatic Mutation Theory does not explain that the proliferation of neoplastic cells is not autonomous. It claims that cancer is uncontrolled cell proliferation. Thus, the SMT cannot explain that breast cancer growth could be controlled with Tamoxifen, or prostate cancer with castration or an anti-androgen. The other phenomenon the SMT cannot explain is the reversibility of cancer, which has been experimentally demonstrated so many times in teratocarcinoma, hepatocellular carcinoma, breast cancer, etc. We have published on this subject as well. By the way, my research is on development and cancer. We got into endocrine disruption by accident.

The alternative theory, the tissue organization field theory of carcinogenesis, posits that carcinogens perturb the interactions between stroma and epithelium or parenchyma and stroma. These reciprocal interactions are central to histogenesis and organogenesis. During fetal development of the mammary gland, it is the stroma that determines the shape of the ducts. Altering these interactions will result in altered tissue structure, and as a consequence we will observe metaplasia, dysplasia, and neoplasia. So what is being altered is not the interior of the cell but the way cells communicate among themselves. Therefore, the targets of carcinogens are those tissues. Cancer is a problem of tissue organization comparable to organogenesis and histogenesis. Thus, chemicals like bisphenol-A could increase the propensity to cancer. The implicit premises of the TOFT are that the default states of cells are proliferation and motility, which is of course consistent with evolutionary theory.

A carcinogen is something that produces cancer, not something that produces a mutation. We should go back to where we were, that is, what is a carcinogen? Something that produces a cancer, not something that produces a mutation.

So yes, a carcinogen produces cancer but is not necessarily a mutagen. This brings us to cell phones and cancer. These waves do not produce mutations at the doses that we are exposed to, but epidemiological studies are suggesting that they may produce cancer. If you accept the TOFT, then the hypothesis that EM waves could cause cancer is possible and should be taken seriously and investigated. If you think that cancer is due to a mutation, you won't in principle believe that EM waves pose a risk. If you accept the SMT, you shouldn't study BPA because you have to use a "truckload" to observe the formation of DNA adducts.

So the experimental approach to the tissue organization field theory is that animal models are crucial to its research strategy, particularly the use of animals and techniques developed by embryologists to study morphogenesis, including transplantation and tissue recombination. Tissue organization becomes a central subject of study in carcinogenesis. We are developing 3D culture models to study organization and histogenesis. Development of systems biology approaches is pivotal to the understanding of normal histogenesis and carcinogenesis. This is another important part of our program. The predictions of the TOFT are: 1) that carcinomas may be induced by exposing the stroma to carcinogens (we tested this prediction and published these results five years ago), and 2) that the neoplastic phenotype is reversible (we published evidence for this six years ago).

Here is how we did it. We separated the stroma and the epithelium and then the stroma was exposed to NMU and the epithelium to vehicle. When we exposed the stroma to vehicle and the epithelium to NMU, we didn't get a single cancer. The opposite recombination of NMU-exposed stroma and vehicle-exposed epithelium resulted in mammary carcinomas.

This is the normalization experiment. We "cleared" the mammary glands (removed the ductal tree) of animals at 10 days of age. Then, we let them grow to different ages before injecting cells retrieved from NMU-induced mammary gland carcinomas. We injected these cells into the mammary fat pads in 24 day old (DO) pre-pubertal animals, 52 DO young adult animals, 80 DO and 150 DO animals, as well as animals that are twice-parous. So we had all of these animals synchronized so that each time we got a tumor, we would inject the same tumor at 24, 52, 80, 150 and twice-parous. We found out that the young animals would develop tumors, but the older the animals, as well as those twice-parous, developed normal ducts instead of tumors. In the figure we have the primary tumor in the upper left, and the secondary tumor in animals injected at the age of 27 days in the upper right. The lower right represents animals injected at 52 days of age. In the lower left, we see normal ducts from animals that were injected at 83 days. These are perfectly normal ducts. Cancer is potentially reversible.

Question

You think there is a kind of cooperation between the two cell types, the stroma and the epithelium cells, then could we imagine that there are some marking factors are something like this, which is accurate? Have we any idea of which kind of factors? Are they known? Or are there some hypotheses?

Ana SOTO:

We have performed a transcriptome microarray study, and found a few candidate genes that are involved in cell-to-cell communication, and some are components of the stroma. We think there are both biochemical and biophysical components. On studying the biophysical parameters, we found that we could get rounded acini or elongated ducts by modifying the properties of the matrix, but that is another seminar. Let's move to BPA. This is the famous pump that we implant at day 8, and

then we follow the fetuses or the newborns and we look at the mammary glands, among other end points. I thought that this was probably the most radical thing I could show you to demonstrate how science, even basic science, is changing.

You as toxicologists will have to deal with these profound changes, too. Again, here we have the famous positional effect. Look at the mammary gland of a 0 male, and a 2 male-female; this is at embryonic day 18. Tiny differences in hormone levels cause this measurable morphometric difference. The interesting thing is if I gave BPA, the difference between 0M and 2M disappears because now 0M becomes exactly identical to 2M. Again, we are talking about subtle, yet measurable effects that in this case are provoked by tiny physiological doses. What we are going to see later on is not physiological.

We know that mammaryogenesis occurs through a series of reciprocal interactions between the mesenchyme and the epithelium. We know that in the absence of FGF10, the fat islands won't develop, etc. We know that many events that happen in the stroma affect how the epithelium will organize, so if the fat pad doesn't develop well, the epithelium will not be able to branch, for example.

Here we see the control. The substance stained in blue is collagen. In the BPA treated, you see that there is less collagen. In the BPA exposed, there is an accelerated maturation of the stroma due to increased accumulation of fat droplets in the adipocytes. We see altered collagen deposition. In the epithelium we observe an increased number of terminal ends, increased area subtended by ducts, and an increased ductal extension. If what BPA was doing was accelerating the process of maturation, we wouldn't have any trouble. We will have more developing areas, but that is not the case because at the same time, BPA inhibits the formation of the lumen in the epithelium. Something goes wrong by accelerating the maturation of the stroma that fast. Lumen is not formed, it forms later on, there is a delay, and the size of the epithelial cells and their organization is different. Here is how we explain these results: BPA binds to the ERs that are only present in the mesenchymal cells at this stage of development. There is no estrogen receptor in the epithelial cells at day 19 or 20. The appearance of the estrogen receptor is post-natal in the epithelium. Mesenchymal collagen reorganization alters the biomechanics and we think that this is what is increasing epithelial elongation and delayed lumen formation, because there is evidence in vitro using 3D cultures that if you alter the biomechanics, in a rigid matrix, you can delay lumen formation. And accelerated maturation of the presumptive fat pad causes precocious epithelial branching. This is at fetal day 19. We stop exposure by birth, day 1, in the experiments where we have studied organization of the mammary gland. In the ones where we do reproduction, it is perinatal, it is up to day 16, postnatal 16. Here we are talking only fetal.

This is the mammary gland at 1 month of age, exposed prenatally to 250 ng/kg/day. As a side note, 250 ng/kg did not affect reproduction in the continuous breeding experiment I showed a few moments ago, but it produces alterations in the hypothalamus and in the mammary glands. As you see, there is a retardation of ductal invasion into the stroma. So at 1 month, as I said, there is a delay in the invasion and that is due to the fact that there is an inhibition of apoptosis in the terminal buds which are the organs that invade the stroma. In order for the duct to become patent, cells have to die. Of course, this process "catches up" later on. Again, you have delays in one sense, but you have accelerations in other end points. At 1 month of age, that is right about a couple of days after puberty, you start seeing clusters of epithelial cells that are PR positive, so the progesterone receptor is expressing earlier. There is a delay in invasion, but it is an early induction of progesterone receptors. Things are out of synchrony. What are these PR positive clusters? Those are the places where branching will occur. Lateral branching happens earlier in the BPA exposed animals. You see here at 4 months of age that the control animal has scant branching, whereas the animal that has been exposed to 250 nanograms per kilo has a significant increase of lateral branching. Additionally, another effect of progesterone is that there are alveolar buds all over.

At 6 months of age, these virgin animals have mammary glands that look like the ones observed during the first week of pregnancy. They stay in this stage for indefinite amounts of time, so it is like

being in a sort of arrested pregnancy which is a very unnatural state. That may not bother toxicologists because it is neither here nor there regarding “adverse” effects, but this should bother toxicologists because it is not normal. Again, what is the idea? If something is not normal then I do not think it is good.

What about if you have intraductal hyperplasias that are patently pre-neoplastic lesions, is that good? So you can see them here and how these ducts are totally obstructed here and there by cords of cells. This is pre-neoplastic and you observe that in 30% of the animals that have been exposed to bisphenol-A. It appears later in life in mice. The earliest ones we have seen are at 3 months of age but it is mostly at 9 months of age that you see it. This is a mouse, which is a particularly bad model for mammary cancer. What we have seen in the mice, every little thing we have seen in mice, when translated into humans sounds like a risk factor. Increased lateral branching corresponds with increased mammographic density. Intraductal hyperplasias are pre-neoplastic lesions. Increase in the number of terminal end buds at puberty suggests more structures where cancer can arise. . This may translate to an increased risk of mammary cancer. Next, we used the same exposure regimen in rats because rats are a good model for mammary cancer.

Since the US EPA considers exposures below 50 micrograms per kilo per day acceptable exposures, we tested a range of doses from 2.5 to 500 micrograms per kilo per day. We observed that there is a threefold increase in the number of hyperplastic ducts in animals exposed to BPA during fetal life. We observed an increased number of hyperplasias at puberty, and this is maintained at 90 days, 150 days, etc. What we did not expect to find, aside from hyperplasias, were carcinomas in situ. We found them in one third of the animals exposed to 250 and 1,000 micrograms/kg. By the way, remember that this dose, 250 micrograms/kg/day, results in traceable amounts in human plasma levels.

Question

I have a couple of questions. The first one is, you presented very convincing data on the effect of bisphenol-A during prenatal exposure. What about postnatal exposure? As you know, one of the risk management issues in bisphenol-A was the ban of using this type of compound in baby bottles. So what do you think about the toxicological effect of bisphenol-A during postnatal exposure?

Ana SOTO:

We think that cancer is a problem of development, and the mammary gland develops throughout life. Estrogens are an important risk factor at all ages. (Epidemiological studies in Scandinavia revealed that twin births where there are two placentas (fraternal twins); the female twin is more likely to contract breast cancer and the male twin prostate cancer than singletons). That is a clearly distinguishable fact that the placenta is producing estrogen. Epidemiology suggests that the hormonal background is responsible in utero, so we proceeded to expose the animals fetally. You saw how BPA obliterates the difference between the mammary gland between 0M and 2M. We believe that it is time to look when it hasn't been looked at before so that is what we studied. But if you are considering puberty, then that is the maximal sensitivity of the mammary gland to radiation. The Lamartiniere group exposed neonatally, but their model requires a second hit with a carcinogen. In this protocol, neonatal exposure to BPA decreased the latency period and increased the yield of tumors per animal. I believe it will happen at all ages.

Question

So nobody looked in the brain where there are some sexual signs of structures...

Ana SOTO:

Oh yes, we did. We looked at the AVPV in animals exposed to BPA. BPA reduces the number of TH neurons in the AVPV, as well as reduces the volume of the AVPV. This is an androgenizing effect. The AVPV is important in the control of cyclicity and positive feedback.

Question

Do we know whether DES follows a known monotonic dose response curve as well?

Ana SOTO:

I haven't examined that. The DES I remember didn't go any further below 10 nanograms and topped to 100 micrograms. They found that it wasn't non-monotonic, but that the effect was compounded because at low doses it is producing alterations in the cumulative number of pups. At higher doses, you may argue that it is a cumulative effect. However, it is not cumulative because they do not reproduce at all. The reasons are diverse because at very low doses you don't have the malformation of the oviducts, for example, and the ovaries are not full of polyovular follicles. The fact is that they do not reproduce and it looks like a monotonic dose response. I never run DES except as a positive control.

Question

Do we have other examples of compounds which would follow a non-monotonic answer...?

Ana SOTO:

Yes: estradiol. If you look at our publication, we used animals (mice) at 20 days of age. We administered estradiol at 8 different doses and sacrificed the animals 10 days later to look at the mammary gland. The number of terminal end buds gives a non-monotonic dose response curve. High estradiol doses inhibited the migration of the ducts into the fat. Within the same animal set, the uterus, responds monotonically. If you look at the expression of individual estrogen-responsive genes in the mammary gland the dose-response is monotonic. There are effects that are non-monotonic and there are effects that are monotonic in the same animals. This is clearly apparent and highly reproducible. At low doses you have more accumulation of cells, at high doses, inhibition, and it is not because it is a toxic phenomenon. It is a normal effect like in the case.

Question

I want to discuss chronic versus acute exposure. We knew that this phenomenon in endocrinology, especially for example with androgenic receptors, and this concept has not crossed into the toxicology field. And now we have a lot of difficulty saying that when we fail to observe a monotonic dose effect, we are in the presence of a specific phenomenon. It is very difficult to explain that to all toxicologists. So it is very important to say that the risk assessment is very closely linked to the exposure window. We can have a bad interpretation regarding the risk, if we want to extrapolate one specific case of exposure to another specific case of exposure. We have to take care in this group to consider the risk with the positive exposure and effects.

Ana SOTO:

I think that changes everything, and that is why I am saying toxicologists should be open to the fact that now we are talking endocrinology. You cannot just deal with endocrinology without taking the basic concepts of endocrinology into consideration. To me, that is the first thing I mention when talking with people interested in endocrine disruption but not familiar with endocrinology. We have to find a point where we can understand each other because there is no way to tell an endocrinologist with a straight face that everything is monotonic or something like that because he

or she won't believe you. We, endocrinologists, live with these types of curves every day. It is a problem not of good or bad faith, but when people say to me, "No, no, no, this can't be" I advise them to just separate the first part of the curve from the second, there is the answer. We did it experimentally, which required years of work. You just cannot convince me. I have been studying this phenomenon since the mid '70s. I think that is a very important issue.

When I talk with people about risk assessment, I cannot stress it enough that risk assessment is not a science. It is a technique created to assess risk, which is a very difficult thing. Taking with the same seriousness whatever goes into risk assessment, and the basic concepts in biology is absurd. Risk assessment is fixed in old science, and science - biology - is always changing. In some respects we are being taken back to the 1880s because we are seeing the influence of the environment more and more. People said that development was a DNA program, and we said "no, no, no". It is changing because it is a human activity. The evidence is really striking. Microorganisms in the intestine induce enzymes in the enterocytes. Your digestion is as good as your microflora allows. There are all types of symbiosis occurring, like wasps that contain bacteria inside which are essential for completing the embryonal process, because if you kill the bacteria, certain fungi will invade the embryo. We are constantly discovering these complex interactions that occur everywhere, which is why we are talking about ecological developmental biology and how important it is to be aware of it.

Question:

I wanted to ask you another question about risk assessment, because it is the main concern of this group. To assess a discontinuous effect is not very difficult, because it is present or not. But for a continuous effect, the problem is very acute. Because from which state, which level do we consider that the effect is significant or not? If we observe, for example, the variation of different hormones in the body, from which level do we consider that its effect is significant or not? From a statistical point of view, it is very easy, but from a biological point of view, it is not very easy to answer this question. Do we have an idea about that?

Ana SOTO:

My feeling is that it's very difficult to get or to look for a safe dose of anything that is hormonally active. I think that basically we don't have safe doses. First of all, I think that in order to answer that type of question, you will have to get into systems biology and simulate human situations, because we are not exposed to a single chemical. I believe that everything changes depending on which chemicals that you are exposed to.

I understand you perfectly, but I'm telling you how it is that we feel. I don't know how you talk to the rest of toxicology groups, when you find that your compound produces an effect at 25 nanograms per kilo, that your compound has a non-monotonic dose response, and that it acts additively with other compounds including estradiol 17 beta. I just don't know how you do a risk assessment of that, because you haven't invented the risk assessment for that type of thing. You deal with toxicants, and not with hormones. So I think we have to assess: How much you can make a circle become a square? I don't know. We are talking about two different beasts here. We are talking about lead on the one hand, and we are talking about a hormone that is acting additively with other hormones. The experiments about additive effects in animal models by U. Hass are so clearly disturbing.

I think we have to re-think risk assessment. I invite you to do this, but it will be difficult to keep updating it as science progresses. Perhaps we should look at the problem in a different way, by just looking at the information without trying to fit it in a conventional risk assessment model. 6% of the births in Denmark come from assisted reproduction. This is huge. Probably this explains why

Denmark is more concerned than any other country about the health impact of endocrine disruptors.. And if you break it down by age, the youngest people are the ones that demanded more. So if you were born a long time ago, you have less problems reproducing, than if you were born 20 years ago.

Question:

Just maybe a last question about the OECD and specifically on the value of the OECD test guidelines to provide information about toxicity at low doses.

Ana SOTO:

The OECD is using outdated science to develop their assays. Take the uterotrophic assay, for example! In mice, a dose of one hundred milligrams of BPA per kilo is needed to get an uterotrophic response. In contrast, we need only 25 nanograms to alter the behavior of these animals. So there is something wrong with the way they assess endocrine disruptors.

There is another way to evaluate EDs. We participated in a round robin study organized by NIEHS. It was a blind study on the mammary glands of animals that have been exposed to two test EDs. We analyzed the whole mammary gland and look at the ductal structure. All participants were able to tell controls from exposed animals. This is the type of assay they should be evaluating.

Question:

I think 'integrating different biological systems into risk assessment is one way'. But again, this is not, we are like opening Pandora's Box, and trying to deal with these types of compounds, which even if you consider that they are disrupting hormonal homeostasis, we can consider them as a toxicant, we have to find another way, a new way to assess this type of compound, like it has been done with carcinogenic compounds, which are not taken into account in the same way as other compounds. We have to consider per se the family of endocrine disruptors. But this is probably more complicated than for carcinogenesis.

Ana SOTO:

Yes, I think so, because I think that here you have the problem of a non-monotonic dose response, you have the multiplicity of targets, and the fact that the same chemical could be a partial agonist and a partial antagonist, sex differences, etc. I think that you have quite a task. But what I'm telling you is that in any case, if you look at the tests that are being used, they are wrong. I think that my message is to take into consideration the new literature, and go from there; because there is no way that you can do what the OECD says you should do and get anywhere. Their assays are insensitive and inadequate. So I think you will have to consider the whole corpus of published literature, and try to integrate that somehow, because you will have different effects depending on species, feed and other parameters. But if you see significant effects at doses of BPA as low as 25 nanograms, you have to consider that a potentially serious problem. Probably, a sound way to approach this is to write a white paper about a theoretical situation and ask what to do when we are observing a non-monotonic dose, a very low dose producing an effect, and how to address a syndrome that present with multiple effects, as is the case with BPA.

What I'm saying is that I don't like having nanoparticles in my neurons. And I don't think that anyone has a right to put them there. So you have to decide where the burden of proof should be in regard to man-made environmental agents getting into our cells and tissues. What is a deleterious versus a non-deleterious effect? I think that if your exposed animal develops carcinomas in situ, not even that, if it develops preneoplastic lesions, then we should consider this a deleterious effect.

Compte rendu de l'audition de Sandrine BLANCHEMANCHE et Laura Maxim, Unité Met@risk

Audition réalisée à l'Anses le 6 décembre 2010

(accompagnée de Ève Feinblatt et Xiaobo Chen, travaillant sur les controverses scientifiques, ainsi que de Laura Maxim, chercheuse à l'Institut des Sciences de la Communication du CNRS et qui travaille sur l'incertitude dans les risques chimiques).

Ne se jugeant pas compétente, l'équipe propose de ne pas répondre aux questions 1 et 2.

Question 5 « quelles seraient les actions prioritaires à entreprendre pour mieux maîtriser les risques liés à ces substances ? »

Avant de pouvoir dire quelles sont les actions prioritaires à entreprendre, il nous paraît important de dresser une liste d'alternatives d'action. Pour chacune de ces alternatives, un scénario qui décrive les conséquences sociales, politiques et économiques devrait être constitué. Ce scénario, qui ne peut pas être quantitatif mais un mix d'éléments quantitatifs et qualitatifs, devrait pouvoir refléter aussi bien les conséquences sur le court terme que des conséquences sur le moyen et le long terme. En effet, les mesures mises en œuvre dans le moyen terme (exemple : renforcement de la recherche de substituts, aides aux entreprises qui les produisent, etc.) peuvent être différentes de celles appliquées à court terme (exemple : interdiction pour des usages particuliers, développement de la recherche toxicologique, etc.).

À notre sens, le choix de l'action à entreprendre ne peut pas se faire sans envisager une évaluation de la réponse de chacune des principales parties prenantes (car c'est un cas controversé) par rapport à chacun des scénarios.

Question 6, « quelle devrait être la contribution du public (parties prenantes) dans une évaluation de risque ? »

Sandrine BLANCHEMANCHE introduit une différence entre public et parties prenantes. Toutes parties prenantes, les ONG comme les industriels, mais aussi la communauté scientifique au sens large, doivent être impliquées dans la mesure où aucune source d'expertise ne mérite d'être éloignée et que la transparence est essentielle dans des situations controversées où la méfiance vis-à-vis des experts est encore plus importante que dans d'autres situations.

L'équipe préconise pour cela :

- d'organiser une procédure, comme on le fait parfois, de consultation des parties prenantes où elles puissent faire un retour sur l'évaluation du risque en cours. Évidemment, le choix de cette solution implique qu'un retour soit fait suite aux commentaires des parties prenantes, y compris des modifications au dossier, le cas échéant ;
- de réaliser une analyse des incertitudes, mettre en ligne les comptes rendus de réunion, etc., de manière à informer le plus grand nombre des activités d'expertise.

Question 4

Présentation de la démarche HolyRisk (notamment ce qui concerne la caractérisation de l'incertitude dans le cas du Bisphénol A).

Objectif global : analyser empiriquement les incertitudes exprimées dans les évaluations des risques, et les conséquences sur les mesures de gestions (en particulier dans le cadre des risques alimentaires) à partir d'une comparaison États-Unis / Europe.

Méthode : construction d'une base de données qui intègre toutes les évaluations des risques sanitaires des aliments, et les mesures de gestion qui ont suivi aux États-Unis et en Europe. Il faut ensuite coder les évaluations du risque et les mesures de gestion. Quelles pratiques différenciées peut-on trouver aux États-Unis et en Europe sur le rôle de la science et de la science réglementaire ? Quel est le rôle de l'incertitude, là aussi aux États-Unis et en Europe, sur les prises de décision qui suivent ?

Projet : transposer cette démarche aux risques chimiques et environnementaux (l'équipe a commencé à codifier avec la même méthodologie le Bisphénol A).

Objet : présentation par S. BLANCHEMANCHE l'ontologie (corpus) elle-même. L'objectif est de rechercher les incertitudes qui sont exprimées dans les rapports d'évaluation sur la base d'une analyse des différentes sortes de classification d'incertitudes existantes dans la littérature scientifique et institutionnelle. Les variables ont été affinées de sorte à obtenir deux ontologies. La première, hiérarchique, comporte des variables d'incertitude objectivables, et la seconde comporte des variables qui relèvent de l'ordre du jugement. S. Blanchemanche présente les deux ontologies.

- Les variables de jugement, sont déclinées en cinq catégories ; *disagreement* quand il y a un désaccord entre les membres du comité ; *precaution* lorsque, dans le rapport d'expertise, est exprimée de façon claire une démarche précautionneuse ; *confidence*, lorsque le rapport insiste sur la confiance des experts en leurs résultats; lorsqu'est exprimée une hypothèse, le code est *assumption* ; un langage un peu couvert et « pas très clair », qui exprime un certain doute, est codé comme *hedge language*.
- S. Blanchemanche donne ensuite deux exemples. S'ensuit, sur cette dernière catégorie de *hedge language* (terme lui-même intraduisible), une longue discussion.
- De cette discussion ressort un débat épistémologique essentiel propre à l'opposition entre sciences expérimentales et sciences humaines. Une incompréhension relative tourne autour de la « subjectivité » de l'interprétation des textes (ici, des rapports, considérés comme une littérature exprimant le cas échéant un sentiment d'incertitude), notamment au moment de la phase de codage.

Compte rendu de l'audition du Réseau Environnement Santé représenté par A. Cicolella et Gilles Nalbone

Audition réalisée à l'Anses le 28 février

Synthèse de la présentation d'André Cicolella (AC)¹¹

En préambule et avec une idée force, directrice de l'ensemble de sa présentation, AC place le débat sur la nécessité urgente de « mettre la question santé–environnement au cœur des politiques publiques ». Faisant le constat que la marginalité actuelle de cette question au niveau du portage scientifique mais aussi politique, pourtant essentiel, tiens à une « mauvaise entrée, une approche biaisée » où les aspects environnementaux sont analysés « milieu par milieu » (qui

¹¹ Cf article AC à paraître dans la revue Airpur « Evaluation des Risques et Perturbateurs Endocriniens : Le Changement de Paradigme ».

correspond d'ailleurs à l'aspect réglementaire actuel), AC propose un changement de paradigme, où la problématique santé – environnement doit alors s'analyser dans une approche « épidémie de maladies chroniques, maladies de civilisation ».

Pour AC, les publications scientifiques croissantes mettant en évidence la relation entre expositions chimiques, et plus spécifiquement expositions aux perturbateurs endocriniens (PE) et troubles de la reproduction, troubles du comportement, cancérogenèse mais aussi obésité/diabète, (tout cela chez l'Homme mais aussi dans la sphère animale) attestent de l'importance et de l'urgence à modifier l'approche actuelle toxicologique parcellaire (comme analyser uniquement la relation entre perturbateurs endocriniens et reproduction) pour un abord plus global, englobant l'ensemble des conséquences des expositions et donc des PE sur la santé humaine et animale.

AC considère que le rapport de l'Endocrine Society, parue en 2009, constitue aujourd'hui la synthèse la plus complète sur le sujet des PE. Depuis l'appel de Wingspread en 1991 (sous la houlette de Théo Colborn) « attirant l'attention sur les relations PE – reproduction », la vision des PE a maintenant nettement évolué. Les PE agissent aussi sur les hormones thyroïdiennes d'où l'impact en termes de troubles du comportement, mais aussi sur les adipocytes d'où l'impact en termes de diabète/obésité, ainsi que récemment l'impact des estrogènes sur les cellules intestinales.

Concernant la liste des diverses catégories de PE, AC se réfère à la publication de Cravedi publiée en 2007. La liste actuelle de l'Union Européenne publiée en 2007 identifie 320 PE. La dernière estimation faite par Theo Colborn identifie 800 substances. .

AC aborde ensuite la classification en CMR, la jugeant peu appropriée aux PE. La classification CMR repose sur un mécanisme d'action qui est le M, qui donne deux effets majeurs le C et le R. Pour AC, les PE présentent des mécanismes d'action qui ont des conséquences non seulement le C et le R mais plus largement le D (diabète), le O (obésité), les TC (troubles du comportement). La déclaration de l'Endocrine Society en juin 2009, la synthèse la plus récente publiée sur les PE, considère cinq points définissant le changement de paradigme : l'âge d'exposition, le temps écoulé entre l'exposition et ses effets, les interactions entre les substances chimiques, la dynamique de réponse à la dose et les effets latents à long terme.

Les PE ne peuvent donc plus être traités avec la grille classique de l'évaluation des risques issue du rapport de l'Académie des Sciences des Etats Unis de 1983, qui est la base de la réglementation, mais par le danger. Pour AC, « gérer le danger cela signifie qu'à partir du moment où une substance est classée PE, on doit, dans la mesure du possible, l'éliminer, bien sûr quand cela est possible. Cela est quelquefois compliqué comme pour le benzopyrène ou l'arsenic mais, dans ces cas, il faut alors trouver des seuils d'acceptabilité, comme cela a été fait pour les substances génotoxiques ».

L'exemple, notamment du bisphénol A, illustre cette analyse du changement de paradigme des PE :

- effet de l'âge (« la période fait le poison ») : la période de la gestation est une période déterminante. Les données humaines confortent aujourd'hui les données animales, cf l'étude de Braun¹² qui montre une relation entre l'imprégnation maternelle à la 16^{ème} semaine de grossesse

¹² Braun JM, Yolton K, Dietrich KN, Hornung R, Ye X, Calafat AM, Lanphear BP. [Prenatal bisphenol A exposure and early childhood behavior.](#) Environ Health Perspect. 2009 Dec;117(12):1945-52.

et les troubles du comportement chez les enfants de deux ans. Pour AC, la question de l'âge au moment de l'exposition est essentielle, « nous ne sommes plus sur l'idée que c'est une dose tout au long de la vie qui va impacter la santé mais plutôt sur des périodes courtes ; ce n'est plus seulement la dose qui fait le poison, mais c'est aussi la période, la sensibilité de la période de gestation, et principalement la période de l'embryogenèse. Ceci a des conséquences importantes en termes d'expologie, parce que nous ne connaissons pas ou peu l'expologie de la femme enceinte. En pratique, cela signifie que l'exposition notamment aux produits de consommation qui, d'une façon générale est une exposition discontinue, peut avoir un impact sanitaire ce qui doit amener à une connaissance beaucoup plus fine des expositions.

- effet différé : l'exposition *in utero* induit cancer du sein, cancer de la prostate, diabète de type 2 et obésité, atteinte de la reproduction, problèmes neuro-comportementaux ¹³.

- effet plus fort à faible dose qu'à forte dose : l'étude de Munoz de Toro ¹⁴ montre une transformation précancéreuse des cellules mammaires plus importante à 25 nanogrammes/kg qu'à 250 nanogrammes/kg, alors que la DJA actuelle est à 50 microgrammes/kg, soit 2000 fois plus élevée.

- effet cocktail : l'exemple cité est celui de 4 substances ayant un effet anti-androgénique [2 pesticides (vinclozoline + prochloraz) + 1 plastifiant (DEHP) + 1 médicament (finastéride)] montrant un impact plus élevé en cas de mélange (malformations génitales)¹⁵

- effets transgénérationnels : l'étude de Salian montre un impact sur la fertilité sur trois générations suite à une exposition des rates gestantes¹⁶. Ces données correspondent à celles obtenues avec le Distilbène® publiées par la même équipe (Depuis cette audition a été publiée une étude menée par l'équipe du Prof Sultan montrant chez l'humain un effet sur la 2^{ème} génération des enfants « Distilbène »)¹⁷.

Pour AC, cet impact transgénérationnel impacte aussi la gestion du risque et remet en cause ce qui forme aujourd'hui notre grille d'analyse, à savoir « attendre d'avoir la preuve épidémiologique chez l'Homme ». Le fait que l'Union européenne ait une classification 1, 2 ou 3, ou que le CIRC du point de vue cancer ait une classification en 1, 2 ou 3 (sous-entendu 1 est plus important que 2 et 2 est plus important que 3) est une grille sur laquelle il faut revenir. Il ne faut pas attendre que la substance soit classée en 1 pour agir et il convient de prendre des mesures à partir du moment où la substance est classée.

¹³ Déclaration de la Conférence de Chapel Hill . Reproductive Toxicology 24 (2007) 131–138

¹⁴ Muñoz-de-Toro M, Markey CM, Wadia PR, Luque EH, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM. [Perinatal exposure to bisphenol-A alters peripubertal mammary gland development in mice.](#) Endocrinology. 2005 Sep;146(9):4138-47.

¹⁵ Christiansen S, Scholze M, Axelstad M, Boberg J, Kortenkamp A, Hass U. Int J Androl. 2008 Apr;31(2):241-8.

¹⁶ Salian S, Doshi T, Vanage G. Life Sci. 2009 Nov 18;85(21-22):742-52.

¹⁷ Kalfa N., Paris F., Soyer-Gobillard MO., Daurès JP., Sultan Ch. : Prevalence of hypospadias in grandsons of women exposed to diethylstilbestrol during pregnancy : a multigenerational national cohort study. Fertil Steril, 2011, in press

Pour AC, à partir du moment où une substance est classée, le principe de précaution doit s'appliquer et on doit agir sans attendre d'avoir une confirmation des effets chez l'Homme. La confirmation des effets chez l'Homme existe déjà avec le Distilbène®, nous ne l'avons pas sur l'ensemble des effets pour les PE, mais on voit bien qu'on peut extrapoler sans trop de risques de se tromper, des données animales aux données humaines.

Beaucoup de PE sont utilisés dans la sphère domestique (plastique, cosmétiques, produits domestiques), ce qui se traduit par une imprégnation quasi-totale de la population non seulement dans les pays du Nord mais aussi du Sud. Par exemple on trouve du BPA aux Etats-Unis (93%), au Canada (91%), au Mexique (80% mais sur un échantillon non représentatif) attestant d'une imprégnation majeure de la population et notamment de celle en âge de procréer.

Synthèse de la présentation de Gilles Nalbone (GN)

Après avoir dressé un bilan général épidémiologique de l'obésité ¹⁸ GN explique que si les principales causes de l'obésité et du diabète sont connues (contexte nutritionnel avec mauvais apport calorique, excès d'apports caloriques, problème de flore microbienne, problème de sédentarité, facteurs socio-économiques et aussi, bien sûr, terrain génétique à travers les polymorphismes génétiques) est apparue, au fil des années, la notion que l'environnement pouvait aussi être responsable du phénotype d'obésité, du diabète. Dès 1994, Ravussen (Ravussin E, et al. Lancet 1995), évoque cette hypothèse d'un lien entre les polluants et le développement de l'obésité et du diabète. Parmi les polluants, on retrouve bien sûr, les perturbateurs endocriniens (PE), tels que les PCB, dioxines, phtalates, pesticides, Bisphénol A, etc. Cette hypothèse a été peu à peu confortée par différentes études attestant d'un lien entre le développement de l'obésité et du diabète et l'imprégnation en polluants qualifiés « d'obésogènes » (Baillie-Hamilton PF, et al., Complement Med 2002; Gluckman PD, et al., Trends Endocrinol Metab 2004; Grün F, et al. Endocrinol 2006; Carpenter DO, et al. Rev. Environ. Health 2008; Newbold RR, et al. Mol. Cell. Endocrinol 2009; Ben-Jonathan N, et al. Cell Endocrinol 2009; Nadal A, et al. Mol. Cell. Endocrinol 2009; Grün F, et al. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2010).

À la question, qu'est-ce qu'un PE ? », GN propose la définition suivante : « substance qui perturbe l'action des hormones, lie les récepteurs des hormones oestrogènes, thyroïdiennes et autres et donc, mime ou bloque l'action des hormones stéroïdes de manière illicite. Les PE interfèrent avec les voies cellulaires du métabolisme lipidique et des voies inflammatoires, augmentent le stress oxydatif, perturbent les équilibres calciques en intracellulaire, agissent à très faible dose sans effet seuil, modifient l'épigénome, il n'y a pas immunisation du système endocrine contre les PE. Deux définitions, celle dictée lors du Weybridge en 1996 et celle de l'*Endocrine society* me semblent refléter ce que peut être un perturbateur endocrinien, la première insistant sur la descendance, la seconde mettant l'accent sur l'exposition durant la gestation ».

¹⁸ 400 millions d'adultes dans le monde sont obèses et l'OMS prévoit en 2015 2,3 milliards d'adultes qui seront en surpoids avec 700 millions d'obèses. En France, 32 % des plus de 18 ans seront en surpoids et 6,6 millions vont répondre aux critères d'obésité. Entre 1997 et 2009, il y a eu un doublement des obèses en France. On considère que 60 % des diabétiques sont obèses, même si, bien sûr, tous les obèses ne sont pas diabétiques. On estime que 15 % des obèses deviendront diabétiques et que 42 % des obèses feront de l'hypertension et 8,5 % auront une maladie coronarienne. L'obésité est bien un facteur de risque des pathologies cardiovasculaires puisque environ 50 % ont un risque de faire un infarctus. De même, le diabète est une situation qui prédispose aux maladies cardio-vasculaires, c'est-à-dire athérosclérose, thrombose sur une plaque d'athérosclérose, similaire à celui des sujets coronariens. Tout ceci permet d'assimiler le diabète à une pathologie équivalente aux pathologies coronaires.

Pour GN, si la dose est importante, des effets à très faible dose peuvent aussi avoir des conséquences biologiques mesurables à moyen et long termes. Pas d'effet seuil : on peut avoir un effet linéaire avec les PE qui se produit entre 0 et 10 % d'occupation des récepteurs par un ligand. Au-delà de 10 % d'occupation des récepteurs par le ligand, on perd cet effet linéaire, ce qui permet d'expliquer ces effets en U ou en U renversé. Ainsi, la dose qui fait le poison ne s'applique pas aux perturbateurs endocriniens.

Par ailleurs, « l'effet cocktail » est aussi à retenir, mais surtout la période et le temps de l'exposition. Cette période pendant laquelle un individu va être exposé, en particulier au stade fœtal, conditionne ensuite les pathologies à l'adolescence ou à l'âge adulte. Ce concept-là est maintenant admis par de plus en plus de scientifiques et on parle alors des origines toxiques développementales des pathologies chez l'adulte.

Pour GN, un aspect aussi très important des PE sont les modifications épigénétiques. Par modifications épigénétiques, on entend des modifications qui ne concernent pas la séquence génomique, mais des modifications qui concernent les structures protéiques qui entourent l'ADN et qui contribuent à la régulation de l'activité des gènes. Ces modifications qui ont la propriété de pouvoir être transmises à la descendance, sont des méthylation de l'ADN, des modifications des histones et la production de microARN – tout ceci fait partie de ce qu'on appelle l'épigénomique. De plus en plus de travaux montrent que les PE sont capables de modifier chimiquement l'épigénome et d'être ainsi à l'origine de modifications de l'activité de gènes, transmises à la descendance. Ainsi ces modifications contribuent à l'adolescence ou à l'âge adulte au développement de pathologies, en particulier le diabète, l'obésité (effet sur la méthylation de l'ADN ; Rusiecki JA, et al. EHP 2008 - Yaoi T, et al. Biochemical and Biophysical Research Communications 2008).

Sur le plan physiologique, dès qu'un PE est ingéré, il passe dans la circulation, est distribué aux différents organes dont le tissu adipeux qui le stocke avec plus ou moins d'efficacité et il est ensuite relargué par ce même tissu adipeux dans la circulation sanguine, puis, de nouveau, recapté en fonction de différentes stimulations. Un PE stocké dans le tissu adipeux perturbe le fonctionnement du tissu adipeux, lequel interagit avec différents organes pour réguler la glycémie. L'impact des PE sur le tissu adipeux perturbe, à travers la production de différents médiateurs et d'adipokines, les processus de régulation de la glycémie et de l'insuline ce qui conduit au syndrome métabolique associé à la résistance à l'insuline et, par voie de conséquence, prédispose au développement de l'obésité et du diabète (Kyun-Sun, et al. J Prev Med Public Health 2010).

Présentation d'un travail récent (Sergeev AV, et al. EHP 2011) montrant l'absence de relation linéaire (effet en U renversé) entre pp'-DDE, PCB-178 et la lipémie, le taux de HDL cholestérol, la résistance à l'insuline. Travaux montrant que des imprégnations faibles produisent des effets plus importants que ceux observés à l'imprégnation maximale mesurée.

Présentation de différentes études mettant en évidence le lien entre l'imprégnation en PE, tels que PCB et pesticides et la prévalence des maladies cardiovasculaires (Goncharov A, et al. Environmental Research 2008; Melzer D, et al. PLoS One 2010; Stahlhut RW, et al. EHP 2007).

Présentation d'une étude (Ruzzin J et al. EHP 2010) chez le rat alimenté en huiles de poisson contaminées par des polluants (PCB, dioxines, pesticides), montrant la survenue de troubles métaboliques, l'augmentation de la masse corporelle et viscérale, augmentation des lipides et du cholestérol sanguins. Dans cette étude, les modifications de la lipémie s'accompagnent également

d'une altération du contrôle de la glycémie et d'un accroissement de l'expression de certains gènes lipogéniques ; pour les auteurs, l'apport en polluants via l'alimentation suffit à modifier le profil lipémique et glycémique prédisposant ultérieurement à l'établissement du syndrome métabolique et du diabète.

Présentation de plusieurs études animales (Vandenberg, et al. *Endocrinology* 2007 ; Alonso M, et al. *EHP* 2010 ; Rayan KK, et al. *Endocrinology* 2010) sur les conséquences de l'exposition au Bisphénol A pendant la période de gestation et la prise de poids des animaux - le Bisphénol A perturbe le contrôle de la glycémie et de l'insuline - les PE, en activant certains récepteurs nucléaires pouvant jouer sur différentes voies cellulaires, voie de l'inflammation, voie de l'oxydation des acides gras dans la mitochondrie, voie de la lipogénèse, cet ensemble entraînant un phénomène de résistance à l'insuline pouvant ensuite prédisposer au diabète.

GN fait état d'une étude publiée dans *Molecular Endocrinology* (Kirchner S et al. *Molecular Endocrinology* 2010) où des souris gestantes exposées à la tributylétain sont examinées quant au devenir, dans le tissu adipeux, des cellules souches pluripotentes d'origine mésenchymateuse (ces cellules souches pluripotentes ayant la capacité soit de devenir des adipocytes, soit de devenir des ostéoclastes, différenciation qui se fait sous l'effet de stimulus exogènes). Les auteurs montrent que les cellules souches mésenchymateuses présentes dans le tissu adipeux deviennent surtout des adipocytes lorsque les souris gestantes sont exposées pendant la gestation au tributylétain, indiquant clairement qu'il y a une différenciation adipocytaire augmentée en cas d'exposition à ce polluant. L'évolution de ces cellules souches résidant dans le tissu adipeux vers le phénotype adipocytaire serait liée à des modifications épigénétiques, en particulier à une hypométhylation de certains gènes, dont des gènes adipogéniques.

Concernant les questions posées sur « certitudes et incertitudes », GN précise que « les certitudes, ce sont les altérations du métabolisme glucidique et lipidique induites par les PE qui sont démontrées expérimentalement - le crédit scientifique apporté aux études expérimentales sur l'impact des perturbateurs doit être plus important afin d'adopter des mesures de précaution et de prévention chez l'homme qui soient plus appropriées qu'elles ne le sont actuellement ».

Pour GN, « les incertitudes et les inconnues chez l'Homme, en ce qui concerne le diabète, l'obésité, la multitude des facteurs socio-économiques, alimentation, etc., impliqués dans la progression des maladies métaboliques et le mélange des polluants, rendent difficile l'établissement de liens de causalité entre un PE et ces pathologies et la définition des normes d'exposition. La susceptibilité génétique individuelle est un des facteurs qui complique l'interprétation des résultats, mais la question que l'on peut se poser est : **doit-on attendre le résultat d'études épidémiologiques qui sont longues et coûteuses, pour prendre des décisions en termes de protection et de prévention pour la santé ?**

Les études épidémiologiques doivent continuer, mais les **résultats que nous avons actuellement à partir des études expérimentales sont suffisants pour prendre ces mesures de prévention et de précaution**. Parmi les actions prioritaires, il faut changer de paradigme pour évaluer la toxicité des perturbateurs endocriniens, protéger en priorité la femme enceinte et le nouveau-né et l'enfant à travers différentes mesures sanitaires, développer la recherche sur les produits de substitution, redonner à la recherche en toxicologie ses lettres de noblesse à travers des approches transversales et, bien sûr, continuer à progresser dans la connaissance des mécanismes cellulaires et moléculaires pour bien comprendre comment agissent les PE ».

GN : « nous étions dans un paradigme qui était qu'un apport énergétique élevé, un régime riche en graisse et la sédentarité conduisaient, à travers un terrain génétique plus ou moins susceptible, à l'obésité et au diabète de type 2 puis aux complications cardiovasculaires. Dans ce nouveau paradigme que nous proposons avec beaucoup de nos collègues scientifiques, nous intégrons désormais les PE qui s'ajoutent aux facteurs déjà décrits, l'ensemble contribuant à l'accroissement

du risque de développer le diabète, l'obésité et les complications cardiovasculaires qui en découlent ».

Compte rendu de l'audition de PATRICK LEVY, UNION DES INDUSTRIES CHIMIQUES (UIC)

Audition réalisée à l'Anses le 4 avril 2011

L'UIC (en France, plus de 1 300 établissements employant environ 180 000 salariés) est organisée en 15 UIC régionales et huit plateformes interrégionales ayant pour missions principales de représenter la profession des entreprises de la chimie, de dégager des lignes de force, de mener des actions auprès des pouvoirs publics. L'UIC dispose d'une Commission Santé – Environnement et de Comités santé et sécurité au travail et sécurité des produits. L'UIC n'a pas de compétence scientifique intrinsèque en capacité de développer sa propre expertise sur les sujets clefs ; elle s'en remet aux avis rendus par les Agences et à l'analyse des publications reconnues dans le monde scientifique. Il existe en revanche, au niveau européen (le CEFIC), des programmes de recherche et des lignes de financement sous l'égide du programme LRI (Long Range Research Initiative) qui permettent de financer des travaux de recherche, en particulier dans le domaine santé-environnement et notamment sur la thématique des perturbateurs endocriniens.

Par ailleurs, l'expertise des entreprises, notamment parmi les plus grands groupes de la chimie, concerne les champs de la toxicologie, de l'écotoxicologie. Cette expertise est plus particulièrement dédiée à la préparation des dossiers réglementaires et au support des activités de Recherche et Développement. Il existe cependant quelques experts spécialisés sur les Perturbateurs Endocriniens au sein de l'industrie.

1/ Définition de ce qu'est un perturbateur endocrinien.

P.Levy fait le constat qu'il n'existe pas de définition approuvée tant au niveau européen que international qui puisse être appliquée dans le contexte réglementaire. Lorsqu'il est question de perturbations endocriniennes et de toxiques pour la reproduction et le développement, P. Levy estime que nous sommes dans un domaine d'incertitudes majeures, qui explique pour partie qu'aucune définition n'ait été encore adoptée ; il précise que la Commission Européenne a pour objectif de parvenir à une définition d'ici à décembre 2013.

Aujourd'hui, une classification spécifique portant sur les PE n'aurait pas de sens, parce qu'on ne classe pas selon un mécanisme d'action, mais selon des effets sanitaires ; or pour les PE, les effets observés chez l'animal semblent concerner plusieurs organes cibles ou plusieurs fonctions. S'il n'existe pas véritablement de définition réglementaire d'un perturbateur endocrinien, en revanche il existe des textes qui se réfèrent aux PE (dans REACH notamment art 57 f)). Par ailleurs, un certain nombre de textes vise d'ores et déjà des substances suspectées d'être des PE. Tel est le cas notamment de la Convention de Stockholm et l'interdiction des douze substances concernées (18 à ce jour).

Éléments de définition :

- la notion d'agent exogène, d'origine naturelle ou artificielle
- Il peut s'agir, selon P. Levy, d'agents chimiques en premier lieu, mais potentiellement d'agents biologiques, voire d'agents physiques (on peut avoir affaire à la fois à des substances et à des mélanges)

- la notion de perturbation du fonctionnement du système endocrinien et l'homéostasie des êtres vivants
- la définition pourrait traduire le niveau d'incertitudes scientifiques, notamment en matière de santé humaine et pourrait également inclure la notion de fenêtre d'exposition
- inclure également la vulnérabilité de certaines sous-populations.

La définition qui émane notamment des travaux de l'IPCS et qui résulte d'un consensus international ayant notamment impliqué l'OMS, l'OIT et les différents États-membres de l'Union, mais également le Japon, les États-Unis, etc., semble pour l'UIC pouvoir constituer la base d'une définition acceptable ; cependant, la traduction réglementaire doit être beaucoup plus précise et elle doit être assortie de critères permettant de caractériser les PE.

2/ L'impact des perturbateurs endocriniens et des toxiques pour la reproduction.

- L'association n'est pas systématiquement heureuse entre perturbateurs endocriniens et toxiques pour la reproduction de catégorie 3 qui peuvent effectivement relever d'un mécanisme de perturbation endocrinienne, mais pas seulement. À se focaliser uniquement sur la reproduction et sur la fertilité, on occulte selon P. Levy, d'autres impacts possibles des perturbateurs endocriniens.
- Des événements qui ont été observés soit dans la faune, soit au niveau de l'expérimentation animale et qui relèvent soit d'expositions à de fortes concentrations ou dans des conditions d'exposition très particulières sur des populations plus particulièrement vulnérables sont extrêmement difficiles à transposer à l'espèce humaine. Toute transposition à l'Homme nous paraît donc extrêmement excessive à ce jour.
- En ce qui concerne l'Homme, les hypothèses de travail méritent d'être confirmées, même si elles paraissent plausibles d'un point de vue mécanistique (par exemple, les effets observés sur la qualité du sperme), ce qui ne signifie que l'on puisse aujourd'hui établir un lien de causalité entre l'exposition à des PE et ces effets. Il en est de même pour l'inversion du sexe ratio ou la puberté précoce de plus en plus relevée, notamment aux États-Unis qui soulèvent des questions auxquelles il n'est pas possible de répondre aujourd'hui avec certitude.

4/ La question des incertitudes

Le nombre d'alertes augmente, au plan scientifique comme médiatique. Mais, du point de vue des perturbateurs endocriniens il existe encore de très nombreuses incertitudes scientifiques, mécanistiques :

- les effets observés ne sont pas toujours reproductibles. ;
- on a tendance à considérer les perturbateurs endocriniens comme des substances sans seuil, partant du principe qu'une seule molécule pourrait suffire pour entraîner un effet. P.Levy estime que la question ne peut pas être tranchée sans investigation scientifique complémentaire ;
- l'extrapolation animaux de laboratoire/Hommes est sans doute encore plus délicate pour les perturbateurs endocriniens que pour d'autres catégories de substances qui relèvent de mécanismes d'action issus de la toxicologie classique ; la perturbation endocrinienne

amène à se poser la question de l'application de nos modèles et vient bousculer un certain nombre d'acquis de la toxicologie ;

- La notion de dose, la notion de fenêtre d'exposition également, constituent des facteurs d'incertitude ;
- la validation des nouveaux essais, notamment les essais *in vitro*, soulève des incertitudes scientifiques majeures. Des études expérimentales relèvent de protocoles non conventionnels, sous non reproductibles ;
- idem pour l'évaluation des expositions. On dispose de peu d'informations sur le niveau des expositions survenant au cours des périodes « critiques » de la vie intra-utérine qui pourraient donner lieu à des effets à long terme ;
- à défaut de connaître le mécanisme d'action, on a plutôt tendance à considérer ces substances comme sans seuil. Ce serait une traduction du principe de précaution, très lourde d'un point de vue réglementaire, que P. Levy ne considère pas forcément fondée. D'où l'intérêt d'acquérir de la connaissance mécanistique.

5/ Recommandations qui seraient susceptibles d'améliorer la perception que les entreprises peuvent avoir de la question des perturbateurs endocriniens et 6/ Place accordée aux publics dans une évaluation du risque.

Dans l'évaluation, P. Levy voit trois cercles :

- après la formulation des questions à poser lors de l'expertise, le premier cercle, c'est l'évaluation scientifique à proprement parler qui ne doit pas être « influencée » par les parties prenantes (sauf lorsque ces parties prenantes ont des compétences scientifiques). Les parties prenantes et le public doivent être informés des processus d'expertise de manière extrêmement transparente, mais il ne doit pas y avoir d'interaction avec le processus d'évaluation scientifique à proprement parler.
- le deuxième cercle concerne la phase de discussions avec les stakeholders, voire de discussions avec les autorités sur la base des conclusions scientifiques pour proposer des actions pour traduire de façon effective les recommandations des scientifiques : proposition réglementaire, outils de formation, information, etc., Lors de cette étape, l'implication et la contribution des parties prenantes et du public au sens large doit être forte. Ça ne prendra pas forcément la forme d'un débat public structuré tel que nous l'avons connu pour les nanotechnologies en raison des limites qu'il a montrées.
- Le troisième cercle fait suite à la mise en œuvre des actions et appelle des implications plus en aval, sur le retour d'expérience, sur la consultation sur les plans d'action, des initiatives réglementaires, des initiatives normatives où l'avis des parties prenantes en général semble intéressant, ce qui peut nécessiter des enquêtes de compréhension sur ces sujets qui sont des sujets complexes.

Propositions :

- adopter une définition et des critères de caractérisation des PE au niveau européen ;
- rechercher un consensus scientifique au niveau international sur les mécanismes d'action des PE et sur la « transposabilité » des observations de l'animal à l'Homme ;

- dans le cadre de la stratégie de la Commission Européenne sur les PE et des plans nationaux, assurer la programmation et la cohérence des programmes de recherche ;
- communiquer au public les informations disponibles relatives au danger des PE, à aux incertitudes associées et aux programmes en cours pour compléter les données et réduire le champ des incertitudes ;
- compte tenu de la spécificité de certains secteurs, il semble préférable pour l'UIC de traiter la question des PE au sein des réglementations spécifiques (biocides, Produits de protection des plantes...) ;
- poursuivre dans la voie de la traçabilité sur le cycle de vie des substances introduit par REACH. Cependant, la traçabilité a ses limites réglementaires liées au seuil de prise en compte des substances dans les mélanges. Une traçabilité complète des compositions de tous les mélanges mis sur le marché n'est pas réaliste ;
- lorsque la connaissance scientifique sera plus étayée sur les seuils d'effet, il faudra réfléchir au seuil de prise en compte de ces substances dans les mélanges pour améliorer la traçabilité, notamment vis-à-vis du public ;
- parfaire les connaissances sur les expositions ; dans ce contexte, il serait utile de disposer de biomonitoring. ;
- travailler par hiérarchisation sur la base de listes prioritaires prenant en compte, en premier lieu, les expositions grand public, les populations vulnérables et les fenêtres d'exposition, les expositions en milieux professionnels ;
- utiliser à fond et optimiser, le cas échéant, le cadre réglementaire actuel qui permet d'améliorer les connaissances sur les produits (REACH, biocides, PPP...) ; celle-ci comporte déjà des éléments constituant les prémices d'une réglementation encadrant ces sujets ;
- valider des méthodes d'essai au niveau international (OCDE) et leur introduction progressive dans le cadre réglementaire européen permettant une harmonisation des approches entre les États-Membres qui ne sont pas toujours coordonnés,

7/ stratégies de substitution.

La chimie est d'abord mobilisée dans le champ de la réglementation qui compte tenu de sa portée constitue un cadre structurant extrêmement exigeant. Par ailleurs, la responsabilité des entreprises étant pleine et entière en matière d'évaluation des risques (renversement de la charge de la preuve), les entreprises ont tout intérêt à être à l'écoute des attentes sociétales et à anticiper. Ainsi, à la logique réglementaire, s'ajoute de plus en plus des attentes sociétales qui poussent les acteurs de la chaîne aval (les entreprises ayant des marchés « grand public ») à exiger de leur fournisseur des efforts en matière de substitution.

- Mais l'UIC estime que l'application du Principe de Précaution réclame un minimum de base scientifique. Face à l'incertitude, la question de la démonstration de la plausibilité des effets chez l'Homme devient une condition nécessaire pour guider les réglementations et inciter l'industrie chimique et les acteurs en aval à substituer. Ainsi, un renforcement des

obligations de substitution avec des contraintes temporelles fortes sans que les fondements scientifiques n'aient été validés pourraient faire courir à la société davantage de risque que ceux que l'on prétend éliminer.

- En matière de santé au travail, les entreprises ont plus une obligation de moyens (rechercher une solution de substitution, assurer la traçabilité de cette recherche), qu'une obligation de résultat. Le Code du travail, du point de vue de la substitution, constitue donc un levier lent à mettre en œuvre, sauf lorsqu'il est complété par des approches volontaires engagées par les entreprises.
- La réglementation produit (REACH et les réglementations en aval) constitue une arme d'une grande efficacité. De plus, en amont du processus réglementaire (restriction, autorisation), des mécanismes de substitution se mettent en place avec des aspects positifs et des dérives difficilement maîtrisables.
- Dans le contexte de la substitution, l'IUC estime qu'il est parfois préférable de conserver une substance extrêmement dangereuse dont on connaît tous les aspects et dont on sait maîtriser les risques plutôt que de la remplacer par une solution moins bien évaluée. D'où une certaine prudence à pousser trop loin pour l'instant ce processus de substitution pour des substances dont les effets chez l'homme ne sont pas avérés.

Compte Rendu de l'audition de Gilles-Eric Séralini

Audition réalisée à l'Anses le 5 avril 2011

Pour cette audition, M Séralini représente à la fois le CRIIGEN (cf. infra) et l'Université de Caen.

Question 1 : quelle est selon vous la définition d'un effet perturbateur endocrinien ? Parmi les définitions scientifiques et réglementaires d'un perturbateur endocrinien qui sont proposées par divers organismes, quelle est celle qui à votre avis semble le mieux convenir ?

La définition OMS des PE a la faveur de M Séralini, tout en trouvant un intérêt à divers aspects des autres définitions.

Celle de l'Endocrine Society, un peu moins précise, même si elle est vraie également, lui semble subjective car y est évoquée « une exposition inappropriée », ce qui ouvre la porte à des commentaires possibles.

L'inconvénient principal souligné est celui de mise en évidence de la preuve *in vivo*, en particulier chez l'Homme, des effets des PE, avec l'écueil des limites de l'épidémiologie pour mesurer les effets combinés et à long terme, qui créent souvent les perturbations endocrines (expositions fœtales, ou transgénérationnelles par exemple)

Il ne partage pas la définition de REACH qui catégoriserait entre les PE et les CMR alors qu'il y aurait des recouvrements.

M Séralini souligne les limites de la toxicologie réglementaire : classification simplificatrice, risque pris en compte à court terme uniquement, produits évalués individuellement, non de prise en compte des résultats discordants entre les sexes ou non proportionnels à la dose. Cela s'applique aux effets PE possibles des OGM.

Question 2 : quel est selon vous l'impact des PE et des reprotoxiques de cat.3 sur la reproduction et la fertilité ?

M Séralini assimile les PE à des « spams de la communication cellulaire » qui ralentissent ou modifient la communication cellulaire en entraînant des effets atypiques, bio-accumulatifs et différés dans le temps. Les deux grands systèmes de communication cellulaire sont le système chimique (endocrinien) et le système électrique (nerveux). Les PE ont souvent un impact double, sur ces deux systèmes induisant des effets à long terme, spécifique de chaque sexe, la complexité des effets induits étant renforcée par la combinaison des expositions. La recherche épidémiologique d'un effet induit (pathologie) serait donc réductrice pour la problématique des PE dont les effets se situent en deçà de l'effet pathologique visible à court terme.

Question 3 : comment avez-vous rencontré ces questions dans votre trajectoire de recherche, de praticien, d'innovateur, de militant ?

M Séralini présente son parcours professionnel :

- Professeur en endocrinologie moléculaire à l'université de Caen, responsable d'une équipe de recherche et co-directeur du pôle pluridisciplinaire « Risques », issu de la Maison de recherche en Sciences Humaines de l'Université de Caen, associé au CNRS.
- Ses orientations principales sont les perturbations endocrines sur les processus cancérologiques, la biologie moléculaire des protéines de transport des stéroïdes et l'aromatase. Ses travaux actuels sont orientés sur les 15 principaux polluants des eaux de rivière et de surface, et des aliments, en particulier en combinaisons, et les effets des OGM agricoles.
- M Séralini participe au CRIIGEN, association Loi 1901 dotée d'un conseil d'administration et d'un conseil scientifique, en convention de recherche avec l'Université de Caen, contractualisant des expertises et des programmes de recherche à l'échelon national et international sur des substances chimiques et des OGM, entre autres avec le laboratoire de recherche de M Séralini. La pluridisciplinarité de l'approche des PE est représentée au sein du CRIIGEN (scientifiques, médecins, sociologues, juristes, économistes...). Il trouve donc le terme de militant inapproprié.

Question 4 : quelles sont la nature et les sources d'incertitudes dans l'évaluation des risques sanitaires de substances PE et reprotoxiques de cat.3 en rapport avec la fertilité et la reproduction ? Comment selon vous peut-on hiérarchiser ces sources et nature d'incertitudes ? Comment ces natures et sources d'incertitudes sont-elles prises en compte au quotidien de la [recherche], de la [pratique médicale], de l'[évaluation de risque] et de l'[innovation industrielle] [selon vos domaines de compétence] ? Quels sont les points de certitude ?

Trois aspects échappent selon M Séralini à la réglementation en vigueur, alimentant l'incertitude :

1. Problème de la combinatoire des expositions aux pesticides, produits chimiques et médicaments dans l'environnement. Par exemple, les moules peuvent absorber les estrogènes

des pilules contraceptives disséminés dans l'eau, mais aussi dans les métaux lourds (Pr Leboulenger Le Havre).

2. Bio-accumulation de molécules dans les cellules grâce à leur fixation : il s'agit de résidus de plastiques, de détergents ou de produits de formulation facilitant leur pénétration intra-cellulaire, en particulier sur les cellules humaines (exemple : effets PE du produit de formulation du Round up et non du glyphosate lui-même)

3. Effets retardés (à long terme) : rôle de la bio-accumulation mais aussi de l'empreinte génomique des PE (exemple : diéthylstilbestrol). Rôle des PE sur l'épigénétique en particulier à des périodes sensibles du développement de l'individu (embryonnaire ou fœtale).

M Séralini souligne un autre aspect de certains PE : la « pollution » du génome. Par exemple, on retrouve plus de 400 adduits xénobiotiques sur l'ADN d'amniocytes en liaisons covalentes (travail avec l'ENSAT- Toulouse), avec des répercussions possibles sur la reproduction. Les effets sur le génome se manifesteraient sur la reproduction, et le distingo reprotoxiques/PE devient artificiel. La spermatogenèse et l'embryogenèse seraient de bons modèles pour mesurer ces effets. Certaines malformations génétiques seraient liées à une perturbation du développement endocrinien embryonnaire par des PE agissant par imprinting ou par mutations.

Dans la vie sauvage, l'exposition à des mélanges de détergents ou de pesticides peut conduire à des atteintes de la différenciation sexuelle : exemple des alligators en Floride ou des visons au Canada. Chez l'Homme, la baisse de la fertilité masculine ou plus largement le syndrome de dysgénésie testiculaire, seraient sans doute dus à des effets environnementaux induits en particulier pendant la vie intra-utérine.

Si M Séralini convient du fait chez l'alligator que ces effets sont survenus à fortes doses, avec bio-accumulation dans la chaîne alimentaire, il insiste sur l'importance de l'exposition au niveau intra cellulaire et pas seulement extra cellulaire dans l'apparition de pathologies. Il cite l'exemple de la relation entre taux de DTT sanguin et cancer du sein, qui ne prend pas en compte une exposition intra cellulaire potentiellement importante avec accumulation intra cellulaire du DTT, et ce malgré une exposition environnementale faible. La détermination d'un seuil intra cellulaire avec effet en fonction du temps d'exposition lui semble un marqueur non pris en compte sur le plan réglementaire, en particulier à certaines périodes critiques (pas de linéarité de l'effet selon la dose/temps d'exposition). Ceci génère des incertitudes sur la notion de « seuil ».

M Séralini attribue une recrudescence de pathologies depuis une cinquantaine d'années (hormonales, cancers, problèmes de reproduction, maladies immunitaires) à des causes environnementales : exposition très large de la population mondiale à des produits chimiques, dont des PE, les causes classiques (infectieuses, shift génétique) n'expliquant pas tout.

Une hypothèse mécanistique pour l'apparition de pathologies hormonales reposerait sur une fixation des PE directement sur les protéines de transport au niveau hépatique, qui même en cas de fixation relativement faible, seraient acheminés vers les noyaux cellulaires des cellules gonadiques stéroïdogènes. Par ailleurs, leur activation hépatique par les cytochromes, (P450 en particulier), augmenterait leur capacité oestrogénique (par oxygénation). Ces produits exogènes dont les capacités de fixation intracellulaire (propriétés plus collantes ou par le jeu de liaisons covalentes) sont plus importantes que les hormones naturelles, vont impacter sur les cibles géniques de ces hormones (pendant la vie intra-utérine ou sur des oncogènes), ceci même en cas d'exposition faible et de capacité de fixation médiocre sur les protéines de transport hormonales. Les conséquences cellulaires de l'action sur le génome oestrogéno-sensible en particulier pendant la vie embryonnaire seraient les plus importantes en raison d'une activité génique élevée pendant

cette période, conduisant à des effets reprotoxiques ou de perturbation endocrinienne. M Séralini tire de ces constatations la conclusion selon laquelle les tests de mutagenèse et de carcinogénèse actuels (type Ames) sont incapables de prendre en compte la composante de métabolisme et de bio-accumulation des produits testés agissant sur des gènes spécifiques oestrogéno-sensibles.

Question 5 : quelles seraient les actions prioritaires à entreprendre (recherche encadrement législatif ou réglementaire, incitation économique, information, etc.) pour mieux maîtriser les risques liés à ces substances ?

L'épidémiologie classique n'est pas adaptée non plus selon M Séralini pour répondre à la problématique des PE. Elle répond initialement à la question des liens entre exposition sur un temps court et effet clinique (exemple en pathologie microbienne). La difficulté avec les PE repose sur des temps d'apparition des effets qui peuvent être beaucoup plus lents, confrontés à l'exposition récente (dans les 50 dernières années) à des substances en très grand nombre. De plus, la symptomatologie exprimée à long terme n'est pas univoque et le panel des manifestations cliniques possibles est très large, facteurs compliquant d'autant plus la mise en évidence d'un lien par l'épidémiologie classique.

M Séralini regrette que l'épidémiologie soit donc culturellement (OMS, CIRC pour classer les substances dangereuses) considérée comme le seul moyen de mise en évidence de la preuve d'un effet en classe I (reprotoxique, PE ou carcinogène), en particulier pour des effets à long terme et pour des mélanges de produits.

À ses yeux, l'épidémiologie doit pouvoir être remplacée ou améliorée par la concordance de cinq types de preuves : compréhension des mécanismes biochimiques, des effets cellulaires, des effets sur les animaux de laboratoire, des effets sur les animaux sauvages et de ferme, et enfin sur des cas humains (familles ou personnes exposées). Ceci constituerait un « principe de précaution actif », permettant une réaction plus rapide que l'attente de résultats d'études épidémiologiques classant une substance en classe I (effet prouvé chez l'Homme par le CIRC par exemple), niveau de preuve considéré comme le meilleur à ce jour pour prendre des décisions.

Le niveau de preuve mérite d'être reconsidéré pour M Séralini, ainsi que le schéma de plausibilité, limitant la place de l'épidémiologie et intégrant d'autres paramètres à la prise de décision. La gradation des différents effets ou leur pondération respective dans la prise de décision se ferait au cas par cas.

Il illustre cette démarche par les études entreprises sur la pollution des eaux (de rivière ou de surface) par des mélanges (type bisphénol A/Roundup ou PCB/Roudup) après avoir criblé les 15 principaux polluants aquatiques actuels. Ces études tendent à montrer un effet souvent synergique des produits, à partir de cinq polluants. L'action de ces mélanges sur une cible enzymatique comme l'aromatase est ensuite analysée. Les résultats les plus positifs sont observés lorsque les quantités de chaque produit en mélange est inférieure aux doses réglementaires, alors que leur action est parfois inhibée lorsque les doses utilisées dans le mélange sont supérieures ou équivalentes aux doses réglementaires. Des perturbations endocrines sont donc potentielles à l'échelon cellulaire dans ce contexte (notion incluse dans la définition de l'OMS des PE).

La formulation des produits est un élément important pour la perturbation, les principes actifs n'ayant pas par eux-mêmes directement forcément d'impact, mais seulement parfois uniquement sous leur forme commercialisée (exemple glyphosate /Roundup). Les tests *in vivo* chez l'animal et des cas cliniques rapportés peuvent éventuellement compléter. Les tests *in vivo* à long terme ou les études trans-générationnelles sont effectués généralement chez le rat, sur le produit et non sur sa formulation, ce qui peut masquer des effets PE. Il donne l'exemple des OGM tolérants au Roundup qui présentent, selon ses publications, des signes de toxicité différents chez mâles et femelles comme des PE.

M Séralini propose donc :

- que pour les tests sur les mammifères avec analyses de sang, les agences lèvent les secrets industriels sur les résultats, et que ceux-ci soient publiés sur Internet au même titre que des publications scientifiques. Cette transparence permettrait également de prendre connaissance des critères utilisés pour l'évaluation des effets potentiellement PE des substances,
- comme dans le cas du Roundup qui devrait être évalué à long terme à la place du glyphosate.
- qu'on admette que ce qui est déclaré comme principe actif pour une plante ne le soit pas forcément pour un mammifère (exemple : un adjuvant du Roundup, le POEA, n'est pas considéré comme principe actif, alors que son action sur les cellules de mammifères est plus importante que celle du glyphosate.
- que la définition d'un effet relevant en toxicologie soit réexaminé par les agences, car les critères utilisés par les industriels ne prennent pas en comptes dans les tests sub-chroniques à 3 mois (par exemple pour les OGM), les effets variables en fonction du sexe des animaux, ou les effets non proportionnels à la dose. Ceci soustrait à tort des substances potentiellement PE à une évaluation effectuée à plus long terme. Les tests devraient être prolongés au-delà de 3 mois (jusqu'à deux ans) pour observer les effets PE. La contre-expertise doit être organisée, comme les tests transgénérationnels.

Question 6 : quelle devrait être la contribution du public (parties prenantes : ONG, industriels, notamment) dans une évaluation du risque ?

M Séralini considère que les experts des agences ou des institutions (nationales et internationales) ne sont pas en mesure de réévaluer en profondeur tous les dossiers soumis, et d'effectuer une vraie analyse contradictoire.

Il pense qu'une transparence sur les données brutes permettrait de contourner cette problématique ainsi que celle des conflits d'intérêt en passant par le public éclairé de la communauté scientifique

Compte rendu de l'audition du WECF, représenté par Anne Barre et Elisabeth Ruffinengo sur les Perturbateurs Endocriniens

Audition réalisée à l'Anses le 11 avril 2011

Lors de l'audition, WECF a remis à l'Agence un document écrit retraçant sa contribution. Aussi nous sommes-nous permis de reprendre certaines informations importantes de ce document qui ne figuraient pas dans la présente synthèse.

WECF (Women in Europe for a common future)

WECF France est l'antenne française de WECF, réseau d'organisations féminines et environnementales qui s'est créé à la suite du Sommet pour la terre de Rio en 1992 avec pour objectif de porter la voix des femmes dans le développement durable, c'est-à-dire de donner la possibilité aux femmes d'apporter une contribution active dans l'élaboration des politiques environnementales et des politiques de développement durable aussi bien sur le terrain qu'au niveau du plaidoyer international, européen et national et de la gouvernance mondiale.

WECF France souhaite remercier particulièrement le Dr Annie J. Sasco, médecin épidémiologiste du cancer à l'INSERM, pour sa contribution dans le cadre de la présente consultation. Le Dr Annie J. Sasco, a exercé pendant de nombreuses années au sein du CIRC (Centre International de

Recherches sur le Cancer) en tant que chef/e d'unité et a en particulier travaillé sur le thème cancer et environnement de manière très approfondie, contribuant à l'émergence des connaissances scientifiques en la matière. Elle a bien voulu rejoindre le Comité d'expert/e/s du projet Nesting de WECF, et c'est à ce titre qu'elle a contribué à la préparation de cette audition.

WECF France remercie également Marie-France Corre, membre du Comité d'expert/e/s Nesting.

1 - définition de ce qu'est un perturbateur endocrinien,

- Il existe des milliers de substances ayant un effet perturbateur endocrinien que l'on pourrait définir comme ayant une action physiopathologique qui entraîne une modification du système endocrinien. On compte parmi les perturbateurs endocriniens non seulement des substances chimiques de synthèse, mais également des substances naturelles et notamment les hormones sexuelles féminines (prooestrogéniques) et masculines (proandrogéniques) ou les produits qui peuvent avoir une activité antioestrogénique ou encore antiandrogénique, et enfin, les substances interférant avec la glande thyroïde ou les glandes surrénales. Les perturbateurs endocriniens, par leur structure chimique, ressemblent à des hormones et agissent en imitant ou en s'opposant de manière antagoniste aux hormones. L'équilibre de l'organisme est très fragile et tout ajout extérieur peut entraîner des perturbations.
- La plus pertinente des définitions combine la définition 1 de l'EPA et la définition 2 de la Commission Européenne, puisque l'EPA ne prend pas en compte justement les effets cancérogènes qui font partie intégrante du spectre des effets des perturbateurs endocriniens. Ce qui nous paraît important, est non pas de considérer uniquement l'altération de la synthèse ou de la sécrétion d'hormones, mais simplement l'interférence, c'est-à-dire que les perturbateurs endocriniens peuvent avoir un effet limitateur ou réducteur du système hormonal, mais également augmentateur dans certains cas. Cette perturbation peut avoir des effets sur le long terme, et pour conséquence d'augmenter le risque d'incidence du cancer, notamment les cancers hormono-dépendants.

2 - question relative à l'impact de ces substances qui sont présentes dans l'environnement et sur les humains

- Quelle classification prendre en compte ? Il est très difficile de répondre à cette question, d'autant que les classifications de certaines substances dans des catégories sont basées sur des études menées il y a plusieurs décennies et avec des méthodologies basées sur le principe de Paracelse. Les classifications sont nombreuses et en constante évolution, à laquelle se référer ? Le CIRC a classifié en 1976 pour la première fois des hormones comme cancérogènes pour l'être humain, dans la catégorie A. La classification européenne devrait automatiquement s'aligner sur la classification du CIRC (en termes de cancérogénicité), l'EPA le fait en Californie pour certaines substances.
- Les effets sur la reproduction via des effets de type puberté précoce et effets sur la qualité du sperme, effets également sur la fertilité féminine qui sont par contre, moins étudiés. Il nous apparaît important cependant de considérer que les effets des perturbateurs endocriniens ne sont pas uniquement limités à des impacts sur la reproduction, mais également sur tout le système endocrinien, donc les glandes qui sont liées au système endocrinien, à savoir la thyroïde, l'hypophyse, le pancréas, et également les organes qui vont transporter ou recevoir, être les récepteurs des messages hormonaux, comme l'appareil

génital féminin ou masculin, etc. Donc, ces effets pourraient être immédiats pour les perturbations de certaines de ces glandes ou à long terme (augmentation de l'incidence de cancers hormonaux-dépendants, etc.). Il est difficile d'avoir des échelles de puissance d'action pour les perturbateurs endocriniens, comparativement aux cancérogènes, car des doses infinitésimales ont des effets parfois plus importants que ceux observés pour des doses plus élevées. Les études notamment sur le Bisphénol A montrent que quelquefois les effets peuvent être plus importants à des doses bien plus faibles, bien inférieures à celles qui avaient pu être évaluées précédemment, ce qui remet en question le fameux paradigme de Paracelse.

- Un nouveau paradigme est nécessaire pour évaluer la toxicité des perturbateurs endocriniens et les méthodes classiques d'évaluation de toxicité ne sont pas valables pour les perturbateurs endocriniens. Une prudence accrue est nécessaire. Même l'exposition à une dose infime d'une substance au cours d'une phase critique du développement peut avoir des effets à long terme, par exemple le Distilbène®, premier cancérigène transplacentaire dans l'espèce humaine qui est actuellement mis en cause dans l'hypospadias du jeune enfant (par une étude de l'équipe du professeur Charles Sultan de Montpellier). Les phases de la vie fœtale et prénatale constituent des périodes de vulnérabilité particulières aux perturbateurs endocriniens.

3 - manière dont vous avez pu, dans votre association, prendre connaissance et agir sur la question de l'exposition aux perturbateurs endocriniens, notamment contenus dans les produits de consommation.

- Le réseau WECF, depuis sa création, a travaillé sur cette thématique produits chimiques et santé et notamment, nous avons travaillé dès le départ sur la santé reproductive des femmes et sur la santé du nouveau-né. Plusieurs publications ont particulièrement marqué l'histoire de WECF. La première, en 2000 *Protecting future generations* (problématiques de la perturbation hormonale et notamment les perturbateurs endocriniens comme le Bisphénol A ou les Phtalates).
- Outre des publications (guides de poche, livret *Le Cancer du sein et l'environnement*, etc.) , WECF mène différentes campagnes et actions de plaidoyer (réglementation REACH, jouets, cancer du sein, Bisphénol A , etc.) dans lesquels les perturbateurs endocriniens occupent une place importante.
- WECF participe également au comité européen santé, environnement de la région OMS Europe (WECF est membre de ce comité depuis sa création en tant que représentant des ONG environnementales) et en France au comité d'orientation santé environnement et aux groupes de suivi du PNSE II. WECF a contribué à l'élaboration du Children environment health action plan of Europe qui, ensuite, est décliné dans les plans nationaux santé, environnement, et dans les plans régionaux santé environnement.
- WECF travaille avec des spécialistes de différents domaines et également de manière continue avec un comité d'expert/e/s composé notamment d'universitaires, de scientifiques, de médecins, mais également de spécialistes de la communication, d'ingénieurs, et de spécialistes de la protection du consommateur.
- Ainsi dans le cadre du projet Nesting, a été créé un portail Internet en huit langues, qui apporte une information la plus détaillée possible, mais vulgarisée, pour le grand public, avec

une mise à jour très régulière de l'information sur les réglementations européennes ou internationales et sur les études. Des ateliers ou des formations de sensibilisation pour les professionnels de la petite enfance ont également été mis en place. Enfin, WECF a pu travailler sur la thématique des perturbateurs endocriniens à travers différentes actions de plaidoyer.

- [pour complément, voir document remis lors de l'audition reprenant toutes nos activités en lien avec la problématique des PE et des reprotoxiques]

4 - expertises sur les natures et les sources d'incertitude et de certitude qui vous semblent importantes à identifier, à expliciter.

Remarque : si l'on attend la certitude absolue, nous n'agissons jamais, il faut savoir agir en situation d'incertitude : « *No evidence of harm is not evidence of no harm* » (rappel de David Gee, EEA, Some observations on the need for a precautionary approach to environmental health risks, 2009, AFSSET).

- L'endocrinologie est l'une des spécialités de la médecine les plus difficiles, car le fonctionnement normal du système endocrinien dépend d'un équilibre très délicat entre les hormones endocrines et les commandes au niveau cérébral, entre différentes formes d'hormones libres dans le sang ou liées à des protéines. Le système se construit très tôt, lors des premières étapes de la vie : stade foetal, puberté (hormones sexuelles), etc. : le moindre ajout d'origine extérieure est susceptible d'entraîner des modifications du fonctionnement.
- Il est plus difficile de déterminer les effets toxiques et/ou cancérigènes des perturbateurs endocriniens car les formulations sont proches de celles des hormones naturelles et n'ont pas forcément des effets mutagènes visibles au niveau des cellules. Les effets les plus visibles étant les effets sur la puberté ou sur la fertilité masculine. D'ailleurs pour les perturbateurs endocriniens, l'approche de Paracelse, (la dose fait le poison) est remise en cause : la réponse peut être non linéaire.
- sachant que mesurer leur impact reste très délicat pour les PE. Pour les cancérogènes, les recherches ont lieu depuis plus d'un siècle mais cela s'avère bien plus difficile pour les PE.
- WECF considère donc qu'il faut coupler à la fois l'expérimentation animale et les études épidémiologiques. Pour établir une hiérarchie dans l'évaluation des risques sanitaires, les données humaines sont les plus fortes, ce sont elles qui ont plus de valeur, mais bien souvent elles arrivent trop tard, pour constater l'impact de l'exposition. Bien que décriées, les expérimentations animales restent aujourd'hui le seul choix pour éviter ou limiter l'expérimentation humaine sachant que mesurer leur impact reste très délicat pour les PE. Pour les cancérogènes, les recherches ont lieu depuis plus d'un siècle mais cela s'avère bien plus difficile pour les perturbateurs endocriniens. Ensuite, il apparaît nécessaire de développer de nouveaux modèles expérimentaux différents de ceux qui sont pratiqués par la recherche traditionnelle. La toxicologie classique a ses limites et plusieurs paramètres semblent importants à prendre en compte. D'abord, la réalité de l'exposition, ensuite, la détermination de l'exposition réelle des populations humaines aux substances perturbateurs endocriniens et reprotoxiques. Mais comment prédire les effets des perturbateurs endocriniens sur la santé ? C'est que l'expérimentation animale peut apporter des indications. Enfin, l'amélioration des mesures de l'exposition et l'évaluation des conséquences à long terme est importante.

- Enfin, sont à prendre en compte les effets chroniques et les effets à long terme et surtout, les effets dits « cocktail ». Il faut donc sortir d'une recherche substance par substance, et se lancer dans une recherche qui va mesurer l'effet combiné de plusieurs substances en même temps.
- Une fois qu'on a pu évaluer une activité de perturbateur endocrinien, on ne peut pas continuer à laisser des fabricants argumenter sur le fait qu'une utilisation en petite quantité n'est pas problématique, ceci au nom du principe de précaution, au vu des conséquences dramatiques sur la santé de certaines expositions historiques (amiante, PCB, ou autres) qui auraient pu être évitées si un tel principe avait été appliqué. WECF préconise le principe de substitution systématique prioritaire à court terme pour les produits destinés aux enfants/femmes enceintes, basé sur des recherches qui auraient été faites sur les alternatives qui sont proposées en termes de substitution.

5 - vos recommandations, à la fois en termes de recherche, en termes de réglementation, en termes d'information du public.

- Du point de vue des mesures prioritaires à entreprendre, les préconisations du WECF sont très larges : recherches, encadrement législatif ou réglementaire, incitation économique, information pour mieux maîtriser les risques liés à ces substances.
- Consulter notamment sur ce point : *Seven Deadly Sins of Environmental Epidemiology and the Virtues of Precaution*, Philippe Grandjean, *Epidemiology and Society*, (Epidemiology 2008;19: 158–162). Au niveau de **la recherche**, de plus en plus d'études mettent en évidence le rôle de l'exposition *in utero*. Il est donc essentiel que les bonnes questions soient posées aux équipes de recherche (prenant en compte par exemple la réalité de l'exposition des organismes, notamment à des moments clés et dans les périodes les plus vulnérables, intra-utérine, périnatale et la petite enfance). Il apparaît essentiel également de renforcer des équipes pluri-disciplinaires, notamment sur le modèle du CIRC. Une bonne présentation des protocoles permettrait de mieux comparer les différentes études. Plus précisément, il s'agirait d'harmoniser la méthode de comparaison de ces protocoles (qui peuvent être variés) pour permettre de les comparer plus facilement et donc de gagner du temps (en visualisant la méthodologie choisie par l'équipe de recherche). WECF souhaiterait enfin qu'il y ait un renforcement des programmes de biosurveillance et notamment de l'utilisation des résultats qui découlent de ces programmes de manière à pouvoir les utiliser pour mettre en œuvre des mesures de prévention.
- Au niveau du **financement de la recherche**, il paraît essentiel de rétablir le financement public et le financement indépendant de la recherche et de recruter sur des critères d'excellence scientifique. Enfin, le renforcement de certaines disciplines, notamment l'épidémiologie, la toxicologie, la biologie moléculaire (pour l'étude des biomarqueurs) ainsi que la protection des lanceurs d'alerte sont également nécessaires.
- Au niveau de l'**action politique** WECF prône une approche basée sur la prévention et sur la précaution : principe de prévention quand le danger est connu (le premier choix le plus exigeant et le plus efficace, c'est l'interdiction de la présence de certains composés chimiques dont les propriétés sont reconnues dans les produits destinés aux populations vulnérables) et principe de précaution (application aux perturbateurs endocriniens et reprotoxiques 3 de ce principe de précaution sans attendre un niveau de preuve plus élevé). Le second choix, si l'interdiction de la substance n'est pas choisie, serait de combler les

lacunes d'information du grand public en faisant davantage d'efforts sur l'information sur la présence de substances chimiques à travers un meilleur étiquetage, à travers des campagnes d'information ciblées notamment sur les femmes enceintes.

- Plus généralement, la mise en œuvre du principe **d'intégration de l'environnement et de la santé** devrait se traduire au niveau de l'ensemble du cadre législatif et réglementaire, pour passer d'une politique santé/environnement réactive aux scandales de santé publique à une politique de prévention des dommages à la source basée sur une évaluation fiable (WECF insiste sur la nécessité d'une mise en œuvre effective des réglementations existantes comme REACH). Cela suppose une meilleure cohérence et une meilleure lisibilité des réglementations au niveau de l'Union européenne.
- Par conséquent, pour que **le droit à l'information du grand public** soit garanti, il doit avoir accès à des données compréhensibles, notamment sur les perturbateurs endocriniens et les substances reprotoxiques présentes dans les produits de consommation (outre les cosmétiques bénéficiant déjà d'un étiquetage des ingrédients). Des échanges et des partages de données plus importants entre les Etats membres de l'Union européenne doivent avoir lieu pour que les clauses de sauvegarde puissent continuer à être activées par un Etat. Enfin, une mise en cohérence des actions de l'Union européenne et ses Etats membres avec les plans et les programmes développés à l'échelle paneuropéenne donc, notamment le CEHAPE ou à l'échelle internationale, les programmes de l'IPCS, SAICM...
- Du point de vue économique, un soutien aux entreprises qui développent des bonnes pratiques, en particulier les PME, est une mesure qui pourrait être intéressante comme la mise en jeu de la responsabilité du fabricant en cas de non-respect des normes (responsabilité pénale).

6 - la place qui incomberait au public au sens large, dans une évaluation de risques.

- S'agissant de la contribution du public et des **parties prenantes du type ONG** dans l'évaluation du risque, la société civile, contrairement au secteur industriel, n'a pas de retour sur investissement quand elle contribue à la promotion d'une alternative. En revanche, pour financer son implication, elle investit du temps de travail, des moyens de déplacement, de préparation des réunions et consultations, etc. La société civile, si elle contribue de manière quantitative et qualitative à l'évaluation du risque, doit pouvoir *a minima* se doter des moyens de fonctionnement nécessaires. Il y a distorsion lorsque la société civile est sollicitée sur des problèmes de fonds et pour réaliser un travail conséquent, sans être rémunérée, alors que des cabinets de consultants bénéficient par contre d'une « présomption de sérieux » qui implique une rémunération.
- Possibilité de saisine sur des thèmes pertinents correspondant aux remontées du grand public que les associations peuvent avoir.
- Il faudrait ensuite avoir une information suffisamment en amont pour avoir le temps de se préparer et de planifier sa participation (inclusion d'associations dans une liste de diffusion permanente par exemple). Les rencontres associations/ANSES sont à ce jour un élément clé tout comme la communication des rapports de veille mensuels par courrier.

- Enfin, le droit de regard devrait être égal à celui du secteur industriel sur l'évaluation de ces risques (raisons économiques vs raison d'intérêt général).

Pour **le secteur industriel**, qui se trouve dans une logique différente, puisqu'il peut avoir un intérêt économique au maintien de telle ou telle substance sur le marché, il pourrait par exemple être envisagé que les acteurs économiques contribuent à un fonds commun, sans affectation de ressources pour ne pas biaiser l'expertise, visant à évaluer certaines substances identifiées comme préoccupantes (celles ciblées par l'INSERM et d'autres), et utilisées par le secteur industriel.

Thomas Hartung's Presentation

Audition réalisée à l'Anses le 23 mai 2011.

Summary

Thomas Hartung was invited by Anses to give a presentation explaining his position and to reply to six questions on the definition of EDCs and reprotoxicants cat. 3; the burden of reproductive disorders in contemporary societies; the context of his research; the different kinds of uncertainties scientists have to cope with; the recommendations he would make at regulatory, research, and risk communication levels; and the role and status of the public in a risk assessment.

At the beginning of his presentation, TH stated that he was no longer speaking for the European Commission as, since 1 May 2008, he was not representing ECVAM.

Short bibliography of Thomas Hartung

Professor Thomas Hartung, MD, PhD is a physician and a biochemist. His work until 2002 was mainly on pharmacology of infectious diseases. A graduate of the University of Konstanz, Germany, he received his doctorate in biochemical pharmacology and his medical degree in toxicology from the University of Tübingen, Germany.

Since 2009, TH is the director of the Center for Alternatives to Animal Testing (CAAT) at Johns Hopkins University, USA and was the former head of the European Centre for Alternative Methods (ECVAM) at the European Commission Joint Research Centre in Italy. In 2010, CAAT Europe was created as a joint venture between John Hopkins University in Baltimore in the USA and the University in Konstanz in Germany. The objective was to promote a transatlantic and international dialogue.

An advocate for alternative to animal testing and of what he calls 'evidence-based toxicology', TH explained why he believes new tools are needed and how this applies to endocrine disruption. He promotes the use of *in vitro* test methods that focus on human rather than animal biology.

1) Definition of EDCs and reprotoxicants cat. 3

TH favours the definition delivered by the European Commission workshop that he finds comprehensive, precise, and identical to the WHO definition.

TH doesn't see a need to define potential endocrine disrupters, as in the end every hazard identified is a potential disrupter. He thinks that is all about **probabilities** and that one of the most important things that should change in toxicology is to recognise this. For example, he said that we should no longer say: this is or this is not a carcinogen but instead we should say: there are probabilities of something being carcinogenic and non carcinogenic. Toxicology is about **adversity**.

The adversity, a disturbance of a physiological system, is something of concern that should be addressed and be evaluated from a risk management perspective.

2) Burden of reproductive disorders in contemporary societies

Although TH states that he is not an expert in endocrine disruption and that his interest is in testing strategies, he considers that endocrine disruptors are of concern, especially as they can lead to health effects like cancers. However, it is interesting to note that he considers that most chemicals are not toxic and that Paracelsus was wrong when he said that everything was poison.

3) Context of research

TH created an ECVAM endocrine disruptors task force in 2003, which was led by Daniel Dietrich, from Konstanz University in Germany, who then became the head of the Validation Management group of OECD for non animal testing and endocrine disruption. One of the biggest achievements at that time was to bring together the American, Japanese, and European efforts to collaborate, especially regarding *in vitro* investment.

TH is now head of the Center for Alternative Animal Testing, CAAT, created 30 years ago. It was originally sponsored by cosmetic industry but now supported by about 30 companies' foundations promoting alternatives to animal testing in toxicology.

A consultation meeting on 'Validation of quantitative structure-activity relationships (QSARs) for estrogen and androgen receptor binding' was held in August 2004. The aim was to prepare a roadmap for validation of QSAR models to predict ER/AR activity. The conclusions were that alternative methods for endocrine disruptors have both scientific and ethical advantages, cells and receptors from target species improve the relevance and that it's important to use, wherever possible, human materials. Cells and molecular tests provide mechanistic information; permit the study of lower doses and mimic real world situations and only this approach will allow the study of mixtures. *In silico* methods *in vitro* assays are rapid and cost effective but they require optimization and validation as a prerequisite for work.

In 2004, TH set up a 5.5 year project of €9 million, **ReProTect** which was coordinated by Michael Schwartz from Tübingen. This project within the 6th European Framework Program has developed alternative methods aimed to reduce or replace animal experimentation in the field of reproductive toxicology. A group of 32 scientific research institutes in Europe developed a series of alternative test systems covering various stages of the reproductive cycle. A number of well-defined systems stemming from the project were then entered into a feasibility study using various chemicals, with a view to generating an *in vitro* testing strategy. In its final year, a trial, named the "Feasibility Study", was conducted, in which 10 blinded chemicals with well-documented toxicological profiles were analyzed using a test battery of 14 *in vitro* assays. This comparative analysis together with a weight of evidence approach allowed a robust prediction of adverse effects on fertility and embryonic development of the 10 test chemicals. The vast majority of the predictions made based on these results were shown to be correct when compared to the whole animal data. A special issue of the *Journal Reproductive Toxicology* contains papers on the individual test systems developed under ReProTect including several covering endocrine disruption test methods as well as articles on test chemical selection and the feasibility study (Piersma A.H., *Reproductive Toxicology* 2010, **30**, 1; <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.05.008>). TH thinks that the procedure used in this project, may guide future activities in the field of alternative toxicity testing.

In 2008, there was a coalition formed by the US EPA, the National Toxicology Program and the Center for Chemical Genomics Testing (NIEHS-CGC) which was joined by FDA in 2010 to propose a shift from primarily *in vivo* studies to *in vitro* assays with lower organisms and computational modeling for toxicity assessment. Francis Collins, the first author of this approach and now the Director of NIH said 'Toxicity testing was expensive, time consuming, used animals in large numbers and didn't always work'. At the time his predecessor, Elias Zerhouni said 'Animal testing won't disappear overnight, but the agencies' work signals the beginning of an end'.

TH points out that such statements had never been heard from American agencies before and he shares opinion with M.A. Hamburg whom he quotes (*Science* in 2011. Advancing regulatory science. 331,987): “We must bring 21st century approaches to 21st century products and problems. Toxicology is a prime example. Most of the toxicology tools used for regulatory assessment rely on high-dose animal studies and default extrapolation procedures and have remained relatively unchanged for decades, despite the scientific revolutions of the past half-century. We need better predictive models to identify concerns earlier in the product development process to reduce time and costs. We also need to modernize the tools used to assess emerging concerns about potential risks from food and other product exposures. ... With an advanced field of regulatory science, new tools, including functional genomics, proteomics, metabolomics, high-throughput screening, and systems biology, can replace current toxicology assays with tests that incorporate the mechanistic underpinnings of disease and of underlying toxic side effects. This should allow the development, validation, and qualification of preclinical and clinical models that accelerate the evaluation of toxicities during drug development.”

4) Different kinds of uncertainties scientists have to cope with

In reply to this question, TH gave several examples.

As a member of the peer **review panel in the OECD review** of the two animal assays, **uterotrophic assay and the Hershberger assay**, he considered that these tests were not sensitive enough to give a meaningful contribution to the testing battery. They were very suitable to identify strong endocrine disruptors but were not useful for identifying doubtful potential endocrine disruptors. Neither their validation nor their peer-review matched the standards typically required for alternative test methods.

Uncertainties were pointed out during a workshop held in Baltimore in July 2010, called ‘**21st century validation for 21st century tools**’. A keynote paper ‘Courage for simplification and Imperfection in the 21st century assessment of endocrine disruption’ was given by Dan Dietrich and published in December 2010. The OECD testing strategy is a tiered strategy, starting with *in vitro* assays, moving to more selective assays, then to *in vivo* assays for endocrine disruption like the uterotrophic and Hershberger assays, with *in vivo* assays for multiple endocrine and other effects assessment, as the last tier. It goes from low quality of information to high quality of information. TH’s view is exactly the opposite as he believes that the high quality information should be on the top. DD has a very similar point of view and thinks that the use of the highest tier means creating the biggest black box, as the systems are getting more and more complex, and it is more and more difficult to understand what is the mechanism behind them. There are extremely complex, long lasting experiments are used with very many types of endpoints. Consequent application of this hierarchical approach means that information that has direct relevance for humans is lost, and moving more and more into the animal paradigm. At the end of the process, it is clear whether an endocrine active substance will affect rodents or not, but it is not known how to extrapolate this to humans.

To deal with the uncertainties scientists have to cope with, the concept of ‘**evidence based toxicology**’ (EBT) emerged recently. EBT refers to ‘evidence based medicine’ (EBM), which has been a revolution in clinical medicine over the last three decades. EBM shows the advantage of objective, critical and systematic reviews of current practices as well as formal meta-analysis of data and central deposits of current best evidence for a given medical problem. A major step toward the formation of an EBT movement was the first International Forum toward an Evidence-based Toxicology in 2007 (Griesinger et al. 2009). The Forum formulated a declaration and ten defining characteristics of EBT, but, as yet, there is not a consensus definition. The first major development of EBT was the ToxR-Tool to systematically assign quality scores to existing *in vivo* and *in vitro* studies (Schneider et al. 2009), and these can be downloaded from the ECVAM website. Such evaluation is critical for any meta-analysis but also for programs like REACH using existing information for notifications. With the creation of the first chair for EBT at Johns Hopkins in 2009, the EBT idea has been institutionalized for the first time in a major academic institution. It is

hoped to become a starting point for further developments of an EBT movement, as took place with the creation of the EBT Collaboration in th US in March 2011.

5) Recommendations at regulatory, research, and risk communication levels

From TH's point of view, regulatory toxicology needs to renew its tool box, and for endocrine disruption needs to move away from the reliance on acute animal models at high doses to something which is based on mode of action and on human cell models. From his experience during the years in ECVAM on validation but also as a pharmacologist, TH points out the tremendous costs and the limits of animal use. It is not only of ethical concern, but has limits in productivity, especially for testing new products like nano particles and new hazards such as endocrine disruptors. TH also believes that it is important to use a global harmonized effort as we're dealing with global industry and global products. A Transatlantic Think-Tank for Toxicology (t⁴) formed between the Chair for Alternative Methods in Konstanz, Marcel Leist, and the Chair for Alternative Methods in Utrecht in the Netherlands and CAAT, is trying to develop new concepts for toxicology.

A reanalysis of cost and animal use estimates was carried out by CAAT on the EU **REACH** legislation for chemicals of 2006 and represents the largest investment into consumer product safety. The new estimate for the number of substances falling under REACH exceeds 68,000 chemicals. The most demanding studies are in the area of reproductive toxicity testing with about 90% of all animal use and 70% of the required costs for registration. The overall result suggests a demand of up to 54 million vertebrate animals and testing costs of 9.5 billion euro, if current test guidance is applied. This clearly challenges the feasibility of REACH without a major investment into high-throughput methodologies.

It is not known how well animals predict human reproductive toxicity, but it is possible to run the two-generation study on various animal species. For example, rats versus mice, versus guinea pig versus hamster, the correlation is between 50% and 60%, and there is no reason to assume that such studies will predict humans reactions better than they do each other. This is the same, roughly, for another complex endpoint, cancer where there is only good data for comparing mice and rats, but where the correlation is 57%. Cancer is relevant in the course of endocrine disruption, for breast cancer and prostate cancer. A cancer bioassay means treatment of animals for 18 to 24 months, and costs roughly one million dollars. 600 animals are used to give 53% positive results, whatever has been tested. Estimates in humans are that 5% to 20% of substances are actually carcinogenic, but to avoid missing one, many substances are labeled positively. For reproductive toxicity, the situation is similar, although different in the detail. In this case it's an 8-month study, costing \$600,000, but using many more animals, up to 3,200 maximum, and the positive rate is similar. Despite this, experts believe that only 2%-3% of substances are reproductive toxicants.

6) The role and status of the public in a risk assessment

This last question is, from TH's point of view, difficult to answer to as he is mainly working in the area of hazard assessment and not in risk management and risk communication. TH thinks that it is beneficial to maintain transparency communication with groups that are watchdogs and a driving force. There are a lot of public pressures, which can end in influencing regulation. Companies follow customer needs and, for example, have banned products with Bisphenol A.

The 3Rs Road of alternatives: Reduce, Replace, Refine have really been a 20-year fishing exercise. Sometimes a big fish is caught, but there have only been 40 big fish actually caught in those 20 years (the number of validated alternatives). TH believes that new methodologies will change the paradigm, and permit fishing with a net rather than a rod. With political pressure and societal demand for testing, a revolution in biotechnology and bioinformatics and the experiences from validation using good cell systems, TH thinks the time has come to use these new methods rather than the traditional ones for testing chemicals for reproductive and developmental toxicity.

Summary of Jorma Toppari's presentation

Departments of Physiology and Pediatrics, University of Turku, Turku, Finland

Audition réalisée à l'Anses le 24 mai 2011

Background

I received lecture honoraria from Eli Lilly, Merck Serono, and Pfizer in the last year supported by

–the EU, Envir. Reprod. Health, Expored, Eden, DEER

–Academy of Finland

–Pediatric Research Foundation

–Sigrid Juselius Foundation

–Turku University Hospital

–Danish Council for Strategic Research

I am now head physician in the Department of Pediatrics in the field of pediatric endocrinology. My main job is in the Physiology Department which I chair as a professor of physiology at the University of Turku.

For almost 20 years now, I have been working in close collaboration with the Department of Growth and Reproduction of the University of Copenhagen. In the mid-90s, the environmental protection agency of Denmark asked us to make a report and analysis of what were then called xenoestrogens and their effects on male reproductive health, which was published by the Ministry in 1995 and then by the Environmental Health Perspectives in 1996. It was the basis for most of the work that we have done since then.

Regarding definitions of endocrine disruptor

Weybridge definition for endocrine disruptor (1996)

An endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub) populations

EPA Workshop (1995)

An endocrine disruptor is an exogenous agent that interferes with the synthesis, secretion, transport, binding, action, or elimination of natural hormones in the body which are responsible for the maintenance of homeostasis, reproduction, development and or behaviour. Kavlock et al., EHP 1996

Endocrine Society (2009)

An endocrine-disrupting substance is a compound, either natural or synthetic, which through environmental or inappropriate developmental exposures alters the hormonal and homeostatic systems that enable the organism to communicate with and respond to its environment. (Diamanti-Kandarakis et al., Endocr. Rev. 2009)

Problems with these definitions

1. •Adversity?
2. •Intact organism: in vivo versus in vitro?
3. •Mechanism of action: primary vs. secondary effects?

Consequently, my preference is for the old EPA definition which is the simplest and does not introduce additional problems.

Another problem is that what is considered as an endocrine effect; should it be a primary effect on endocrine signaling or on an endocrine organ. Or could secondary effects also be counted as a toxic effect which is not affecting the endocrine system itself directly?

Many of the mechanisms are now studied with genetically modified animals, with knockout animals. Estrogen-receptor-alpha knockout or whatever knockout or modified animal models. Are these studies valid for risk assessment? For sure they tell a lot about the mechanisms of action of the compounds, and I think that they are important studies. But they are not intact organisms!

I will present our study and the idea behind it. First of all, if there is a 46 XY, 45 XO mosaic in a man, he will have testicular dysgenesis and be infertile, often cryptorchid and have a sexual differentiation disorder. Sometimes, it is difficult to say whether a baby with this disorder is a boy or a girl.

The same problem occurs if there are androgen receptor mutations. There are many genetic reasons why testicular development goes wrong, leading to poor somatic (Leydig and Sertoli) cell function. Leydig cells are the cells in the testis that produce testosterone and insulin-like peptide 3. Testosterone and its metabolite dihydrotestosterone regulate masculinisation of the foetus. Without androgen action, every new born looks like a girl. Sertoli cells surround all germ cells. Germ cells are completely dependent on the Sertoli cells like 'mothers' taking care of the germ cells. They cannot even consume glucose as every other cell consumes glucose. They do not know how to handle it. The Sertoli cell has to eat the sugar and change it to lactate and pyruvate that the germ cells can use. It relates all the hormonal signals to the germ cells which do not have any hormone receptors. The germ cell development is completely dependent on Sertoli cells.

Sertoli cells secrete anti-Müllerian hormone that takes care of that in the fetus the female accessory sex organs disappear so that the male does not have oviducts, a uterus or a vagina. If the Sertoli cells do not function properly or if there is no testis, then the new born baby will have all these organs. So, if something goes wrong in the development of these somatic cells, then it ends up creating all kinds of problems. Cryptorchidism, undescended testes and hypospadias, are the most visible in the newborn and there is a whole range from a complete female phenotype to a complete male phenotype, depending on how badly things went wrong.

And it also affects semen quality, because sperm production is completely dependent on Sertoli cells and each Sertoli cell can support about six spermatids. The number of sperm cells depends on the number of Sertoli cells and the Sertoli cells proliferate during the perinatal period and again just before puberty in humans. After puberty, they stop dividing and then spermatogenesis starts.

So, men are living with the same Sertoli cells from puberty to the graveyard. They have to do the job for some 70 years! That also means that after puberty male sperm production capacity cannot improve. It is what it is. And no matter what the emails tell you - that you could improve this or that - you cannot. But you can destroy it of course!

Trends of male reproductive health related to development

Cryptorchidism

We know that cryptorchidism is related to testis cancer, so the risk for testis cancer is at least 4 to 5 times stronger for those who have *cryptorchidism*. On the other hand, among those having testis cancer, less than 10% were *cryptorchid*. So, it is not one to one; it is just a risk. Infertility is another related risk, especially if the cryptorchidism has been bilateral.

More than 10 years ago, we did a cohort study in Copenhagen and Turku where we recruited families during pregnancy and examined the children at birth, at 3 months, and at 18 months; we also took blood samples, placenta, breast milk at 3 months, because at this age the testis is very active as well as the producing hormones. We found that the incidence is really different between Finland and Denmark. In Denmark it is very high at birth (in this study we followed the well-defined criteria of Scorer in 1964 regarding definition of cryptorchidism, including what was called high scrotal testis). Some pediatric surgeons think that they are not really cryptorchid because they do not report on high scrotal at all. This causes a little discrepancy in the literature as some epidemiological studies do include high scrotal and some do not. Much of the difference between Finland and Denmark is caused by this high scrotal testis and 75% descend spontaneously during the first three months in Danish boys, in Finn boys about 50%, which is more like in other countries.

Cryptorchidism and testis cancer incidence really go hand-in-hand in similar populations. But I should say that there is also a genetic component. We know that African Americans in the same areas have much lower incidence of testis cancer than white Americans. There is a huge difference and they also have a much lower incidence of cryptorchidism.

Not only that, but testis volume in newborn boys also differs between Finland and Denmark and especially the growth rate during the first three months. We have examined testicular volume by ultrasound in the same way. This would give a forecast or prediction that the difference will remain the same later on. Also, some differences in hormone levels, Inhibin-B values at three months of age reflect testicular volume.

Hypospadias

Hypospadias is the fourth disorder. It has only about one tenth of the incidence rate of cryptorchidism but it is still a rather common problem and a pediatric surgical problem. This is really an androgen-dependent phenomenon, and anti-androgens can result in the urethra not opening to the tip of the penis, and there the shaft of the penis is split underneath.

Again, there is a large difference between prevalence of hypospadias in Finland and Denmark. In Denmark the rate is very high, as is the case in Holland and England. This is still controversial, but according to the trends in hypospadias and if one looks at it for a long time period, there is a clear increase in the incidence of hypospadias. That is my interpretation of the data.

Semen quality

20 years ago, in 1992, Skakkebaek's group published a meta-analysis showing a global decline in sperm count. That was discussed a lot and there was a discussion as to whether it was just the inter-laboratory variation or whether it was true. This is one of the studies of early EU-funded studies where the methods were standardized and we used external quality control.

The participating centers at the time were the Copenhagen Center, Pierre Jouannet's Group in Paris, and in the UK, Stuart Irvine in Edinburgh, , and Turku in Finland. Yes, there was a geographic difference. There was especially a difference between Denmark and Finland. Means are always higher than medians because there are some men who produce really high numbers of sperm. This study was criticized because the first study was done with the partners of pregnant women. So, we decided to look at the general population, but it is very difficult to study the general population because usually there is always a selection. We wanted it to find a group with as little selection as possible. Then we wanted it to have a group that does not know about their fertility status and who would not be too concerned about their fertility status.

So, we took military conscripts in Finland and Denmark. There is a conscription system so that everybody has to show up for their medical checkup. These are not soldiers, they were recruited when they were 18 and then they were studied when they were 19. We did a similar study in Turku and Copenhagen and in Estonia and Norway at the same time. We also found that there was a clear difference between Finland and Denmark, while Norway seemed to be exactly like Denmark, and Estonia like Finland.

In this study we found that exposures do clearly affect semen quality. Men whose mothers smoked during pregnancy had significantly lower sperm counts than the boys of non-smoking mothers. What in the smoke does this is not known. Note here that like in Finland, the median value for fertile men in sperm concentration is 80 million and 60 million in Denmark. For young men, it is only 55 and 42 million. So, it is about half.

Then of course we asked this question: is this improving over time for young men? And the answer is no. Next week, I will present our 10-year follow-up of this group to the Endocrine Society. This follow-up was made four times, and the sperm counts have remained the same. Sperm quality improves, so morphology and motility get better, but the number remains remarkably similar.

Again, as I said earlier, men reach their spermatogenic capacity at puberty. So, you can study a 19-year old and you get a good idea of his overall sperm production capacity. The quality can get better, but the quantity does not improve.

Testicular cancer

Regarding testicular cancer, there is a lot of evidence that it originates during fetal development and then it appears upon hormonal stimulation at puberty or later on in young adulthood. There is a fundamental difference between male and female development, since male development is largely dependent on hormones during fetal development and very early in fetal development from gestational week 7 to 15 (the most crucial period is from 8 to 12 gestational weeks).

Other periods are also important, because the penis continues to grow after birth until 3 months. The penis is growing pretty fast because this hormonal activity is very high starting early on in the 8th week and then it peaks in mid-pregnancy and then androgen production goes down before birth, goes up again at birth and then at 1 to 2 months after birth, the testis produces a huge amount of androgens whereas the ovary is silent hormonally. It produces some estrogens but very little. That is why boys are more susceptible to many problems, because there is a lot of hormonal activity during development, whereas females develop when there is no hormonal action.

If we look at the map from the 1970s, this demonstrates how cancer is increasing and shows how Norway is catching up and getting very hot. Finland is also showing an increase in incidence rate but much lower. This is a sort of mirroring of the semen quality in countries with high testis cancer, which have the worst semen quality; Sweden is right in-between regarding both of these statistics. These figures show testis cancer rate in the Turku area; the cumulative testis cancer incidence is increasing very fast. If one looks at the age cohort, there is all of Finland in the upper panel and the Turku area and the lower panel, and they are very similar.

Question:

Do you have some new data regarding the trends in testis cancer incidence? Because we had the feeling for example in the U.S and Canada that maybe we will reach a plateau regarding testis cancer incidence and we also have the same feeling more or less for France and Spain. Maybe the plateau will come in a few years. Do you have the same feeling for Finland and Denmark?

Answer:

Not for Finland. In Finland it is really shooting up. I have said that almost the only difference after all between Finland and Denmark or Norway is that we are behind in development. We were really

badly hit by that war, much worse than Denmark and Norway that were just occupied by Germans, but who did not really have a war. I mean they did not fight. Finland was fighting with the Soviet Union for five years and then paid huge compensations afterwards. So, Finland really was a poor country until the 1970s after all this hustle. Anyway, one can say that Finland would be 20 to 30 years behind some of the neighboring countries.

What we know is that the germ cell cancers have their origin in these CIS cells – Carcinoma In-situ Cells. If there are Carcinoma In-situ Cells in the testis, the testis will sooner or later have testis cancer in it, either seminoma or non-seminoma. These Carcinoma In-situ Cells are similar to the gonocyte cells. So the theory or the circumstantial evidence supporting the hypothesis is that if something goes wrong in the development of the primordial germ cells or gonocytes it would appear in development and then in puberty depending on what went wrong. They start to proliferate and that brings out seminoma. If it has more stem cell-like characteristics, then they can develop embryonal carcinoma and all kinds of non-seminoma.

They all have the same origin, but different developmental phases where things go wrong. One can treat this pre-cancer by irradiation because the Carcinoma In-situ Cells are really sensitive to irradiation and then there will be no cancer.

Richard Sharpe and his group have done a lot of work on phthalates; they described the phthalate syndrome which is basically the same as the testicular dysgenesis syndrome. Animals exposed to high levels of phthalates develop hypospadias, cryptorchidism, infertility and structurally abnormal dysgenesis areas - there is no animal model for testis cancer but phthalate exposure is the closest we can get.

Exposure

We have always been asked of course about exposure, and we are ourselves of course very interested in finding out if there is a difference between Denmark and Finland regarding exposure. This is a very simple principal component analysis approach in which we analyzed 111 different persistent chemicals in breast milk samples with children, and took the results of all of them and each dot or triangle here represents one sample where all the chemicals have been integrated into a single sample.

This principle component analysis completely distinguishes between the two countries so that one can according to this chemical signature find out or be pretty sure that this milk sample must have come from Finland and the other one from Denmark. The message being that there is a difference in the exposure. There are some chemicals that differ a lot, and these are two dioxins which differ only regarding the one chlorine position. One has the chlorine in position 6 and one in 4. We do not know why the Finns and Danes are exposed to different kinds of dioxins. Finns having this 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 extra chlorine dioxins and Danes have a different one. This is unpublished data. We looked at the dioxin levels in breast milk and found that in the Danish target group of boys, the dioxin levels were higher in breast milk than in controls and in the Finnish samples the dioxins levels were lower and these are toxic equivalent doses. The toxic equivalence has been determined according to the rules of each dioxin congener. But we do not see the same kind of pattern in placentas and we are not sure whether this has anything to do with cryptorchidism. All dioxin levels have gone down from the 70's when they were the highest. Of course these mothers were born in 70's and we think that chemicals were then downloaded to the next generation.

We also analyzed this old persistent pesticide in breast milk and it is remarkable that the DDT derived DDE pesticide is still so high. These are the eight most prevalent pesticides, and they just hang on there although they were banned long ago and DDT was banned in the 70's.

In conclusion

So, the message is that I think that it is well-established that there are a lot of male reproductive health problems and developmental problems. There are other problems for which I am not an expert. I know about the male reproductive health problems. Some of them clearly have increased and are still increasing in many countries. We know how biological mechanisms can come about.

We know the hormonal system that is regulating the development of the male reproductive system and that regulates its function. We know how it can go wrong and we know that many chemicals do affect these systems. But what we do not know is whether the current exposures are causing any of these problems and we do not know the reasons right now.

I do not think that anybody can claim now that this or that is the cause of testis cancer or cryptorchidism. We know some pharmaceuticals like *Diethylstilbestrol* that clearly had an effect on all of this and we had double-blind randomized studies that were done in the early 1950s that were wonderful because the effects were so clear. And other strong estrogens can also cause this. Concerning the current environmental exposures, we really do not know.

From the animal experiments we know that mixtures combining anti-androgenic compounds like fungicides, procymidone combined with some other anti-androgens at levels that are below the no-adverse effect level, cause a sort of 100% effect, so that all the pups get hypospadias. The mixture effects seem to be dose-additive, which makes it easy to calculate because you can just add them up and all we need to know is the dose curve for each of them.

If we know the dose curve for each compound, then we can calculate what would be the mixture effect, or we can predict it pretty well. At least for the compounds that affect the same signaling route, one can do it. For most chemicals, we do not have these and we know it only for some signaling routes. And we do not know many of the effects. It was only recently that the mechanism of action for phthalates really started to be revealed. Maybe we just were one step behind; we knew that they cause a decline in testosterone production.

My key points in conclusion could be:

- **Endocrine disrupting chemicals, such as DBP cause testicular dysgenesis in experimental animals.**
- **Testicular cancer, impaired semen quality, cryptorchidism and hypospadias can be signs of TDS.**
- **Foetal and early postnatal development are critical phases for reproductive health and vulnerable to endocrine disruption.**

and the actions needed would be:

- **A multi-disciplinary approach, combining mechanistic studies, epidemiology, genetics, toxicology, etc.**
- **Systems biology with modern bioinformatics tools to combine knowledge effectively**
- **International collaboration to share the burden.**

Main references cited by J Toppari

Jorgensen et al. Hum. Reprod. 2001
Jorgensen et al., Hum. Reprod., 2002
Jensen et al., Am. J. Epid. 2004
Jørgensen et al 2010, IJA, in press
Llanes Gonzalez et al IARC 2008"
Boisen et al., Lancet 2004
Main KM JCEM 2006
Suomi et al. JCEM 2006

Boisen et al., JCEM 2005
Main et al, EHP 2005
Main et al.,EHP 2007
Swan SH et al, EHP 2005
Damgaard et al., EHP 2006
Krysiak-Baltyn et al., IJA 2010
Damgaard IN et al, EHP 2006

Acknowledgments

•University of Turku

–Helena Virtanen
–Saku Pakarinen
–Anne-Maarit Suomi
–Marko Kaleva
–Antti Perheentupa
–Jyrki Suominen
–Matti Vierula

Supported by

–EU, Envir. Reprod. Health, Expored, Eden, DEER
–Academy of Finland
–Pediatric Research Foundation
–Sigrid Juselius Foundation
–Turku University Hospital
–Danish Council for Strategic Research

•Rigshospitalet, Copenhagen

–Niels E. Skakkebæk
–Katharina M. Main
–Kirsten Boisen
–Ida Norgil Damgaard
–Niels Jorgensen

•Inst. Health and Welfare, Kuopio

–Hannu Kiviranta
–Terttu Vartiainen

•GSF, Munich

–Heqing Shen
–Karl-Werner Schram

Compte rendu de l'audition de l'ECETOC représenté par Rémi Bars

Audition réalisée à l'Anses le 24 mai 2011.

Pour cette audition, Rémi Bars représente la position de l'ECETOC (*European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals*), un forum scientifique adressé aux entreprises de produits chimiques pour les aider dans leurs expertises de recherche ainsi qu'examiner et évaluer la toxicologie et l'écotoxicologie de leurs produits chimiques.

Question 1 : quelle est selon vous la définition d'un effet perturbateur endocrinien ? Parmi les définitions scientifiques et réglementaires d'un perturbateur endocrinien qui sont proposées par divers organismes, quelle est celle qui à votre avis semble le mieux convenir ?

La définition de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) des perturbateurs endocriniens (PE) semble la plus appropriée à l'ECETOC. Elle prend en compte, comme l'EPA (*Environmental Protection Agency*), l'action de molécules endogènes.

L'ECETOC considère que l'on pourrait travailler avec toutes les définitions, sauf la définition américaine, trop axée sur la mécanistique.

Toutes les définitions évoquent des effets entraînant une altération du système endocrinien, ce qui implique trois aspects :

- l'observation des effets,
- la mise en évidence de mécanismes d'action qui impliquent le système endocrinien
- et la nécessité de travailler sur des organismes (à l'échelon individuel ou collectif) dont le système endocrinien est intact.

Ceci interdit d'emblée aux tests in vitro de pouvoir, à eux seuls, définir un PE.

Question 2 : quel est selon vous l'impact des PE et des reprotoxiques de cat .3 sur la reproduction et la fertilité ?

L'impact des PE sur la reproduction et la fertilité n'en est qu'au stade d'hypothèse pour Rémi Bars. Cette hypothèse pour certains acteurs en Europe est devenue réalité, ce qui conduit à une réglementation.

Question 3 : comment avez-vous rencontré ces questions dans votre trajectoire de recherche, de praticien, d'innovateur, de militant ?

Pharmacien, docteur en toxicologie, Rémi Bars a effectué un post-doc sur les carcinogènes non génotoxiques au niveau hépatique.

Il entre chez Rhône Poulenc et après un séjour aux États-Unis en laboratoire de toxicologie, il réintègre le groupe comme responsable de l'unité des mécanismes d'action et de criblage des molécules essentiellement dans le cadre phytosanitaire au sein du centre de toxicologie où sont réalisées les études de toxicologie réglementaire sur les phytosanitaires (Sofia-Antipolis). Après plusieurs fusions, le groupe s'appelle actuellement Bayer Crop Science.

Nommé au conseil scientifique de l'ECETOC, il y préside la task-force « Perturbateurs endocriniens » qui couvre l'écotoxicologie et la toxicologie. Le premier workshop a eu lieu en 2008

avec des représentants de l'industrie chimique, pharmaceutique et des agences. Les travaux ont été publiés. Le deuxième a eu lieu en mai 2011 (Florence), avec des représentants de différents pays. L'ECETOC, essentiellement constitué de scientifiques, effectue le monitoring et évalue des projets de recherche.

Question 4 : quelles sont la nature et les sources d'incertitude dans l'évaluation des risques sanitaires de substances PE et reprotoxiques de cat.3 en rapport avec la fertilité et la reproduction ? Comment selon vous peut-on hiérarchiser ces sources et nature d'incertitudes ? Comment ces natures et sources d'incertitudes sont-elles prises en compte au quotidien de la [recherche], de la [pratique médicale], de l'[évaluation de risque] et de l'[innovation industrielle] [selon vos domaines de compétence] ? Quels sont les points de certitude ?

La notion de danger est fonction de la nature de l'exposition et de la puissance de l'effet. Or, l'incertitude liée à la définition des « effets », repose sur une confusion entre effets pharmacologiques (pharmacodynamiques) et effets toxicologiques (adverses). La caractérisation d'un effet adverse toxicologique repose sur l'observation d'une altération (cellulaire ou fonctionnelle) qui se traduit par un effet *in vivo* clinique ou biologique. Pour Rémi Bars, un effet toxicologique non dose-dépendant lui semble difficile à concevoir et il n'en a jamais vu, alors que ceci n'est pas exclu pour le versant pharmacologique (courbes en U...).

La question de la preuve d'un effet validée par un effet clinique est donc soulevée. Autant sur un exemple type finastéride/poids de la prostate l'enchaînement semble simple, autant des effets éventuellement induits par des PE sont plus difficiles à mettre évidence (exemple spermatogénèse)

Enfin, il semble actuellement exister un risque de confusion entre :

- l'évaluation de la toxicité et des risques de certains produits dans un cadre réglementaire :
 - évaluation exhaustive pour les médicaments/pesticides/biocides et les produits chimiques à fort tonnage
 - évaluation parcellaire, voire inexistante pour de nombreuses molécules « naturelles » (gingérol, vitamine C...) et produits chimiques à faible tonnage
- et la recherche des causes des troubles de la fertilité et de l'appareil reproducteur chez l'homme.

Question 5 : quelles seraient les actions prioritaires à entreprendre (recherche encadrement législatif ou réglementaire, incitation économique, information, etc.) pour mieux maîtriser les risques liés à ces substances ?

À partir des définitions des PE (cf. question 1), l'ECETOC propose un faisceau d'éléments pour identifier des PE par le croisement des effets adverses observés dans les études apicales ou les études à court terme - qui permettent de définir le profil de toxicité de la substance (identification du risque et caractérisation du danger), et des études de criblage/mécanistiques *in vitro* ou *in vivo* (batterie de tests validés par l'EPA ou l'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE)) qui informent sur le mode d'action de ces substances (cibles moléculaires, réponse physiologique - driving force).

Les tests ciblés permettent de cerner des évènements-clés au niveau cellulaire, enzymatique ou moléculaire des substances sur la chaîne physiologique de métabolisme du cholestérol (stéroïdogénèse) ou des hormones thyroïdiennes.

Une fois les évènements-clés décrits, se pose la question de l'effet-dose, de la temporalité des effets observés, de la force, de la consistance et de la spécificité de la concordance avec les effets adverses observés, de la plausibilité biologique et de la cohérence, ainsi que de la possibilité d'existence d'autres modes d'actions afin de conclure à la présence d'un perturbateur endocrinien. Cette position de l'IPCS (*International programme on Chemical Safety*) de l'OMS a été appuyée récemment au sein du dernier workshop de l'ECETOC par différents représentants d'agences européennes.

En cas de convergence des résultats (entre les effets adverses et les études ciblées sur le système endocrinien), on peut parler de PE. Ceci permet de détecter des PE et de les classer en « high » ou « low » concern, seules les « high » nécessitant une réglementation particulière.

La discrimination en « high » et « low » perturbateurs endocriniens semble nécessaire en raison d'une inflation du nombre des PE potentiels et du besoin de les discriminer afin de prendre des mesures réglementaires.

Actuellement, l'Endocrine Screening Program (USA) s'intéresse à la validation des tests ciblés sur les PE pour 60 ou 80 substances (pesticides ou chimiques), en croisant les résultats des études de toxicologie classique et de ces tests *in vitro/in vivo* afin d'évaluer leur caractère prédictif.

Par exemple, un seul test *in vitro* (exemple test de stéroïdogénèse sur cellules H295R) s'est avéré positif pour six molécules chimiques d'exposition courante (antalgiques, vitamines, caféine...). Une validation sur d'autres tests *in vitro* et éventuellement *in vivo* se poursuit. Ceci pour illustrer la nécessité d'un recoupement des résultats sur plusieurs tests (et en particulier *in vivo*) avant d'affirmer le caractère PE d'une substance et sa puissance.

Si une substance est positive sur une séquence de tests, elle sera écartée du développement si les résultats *in vivo* le confirment. Si l'alerte n'est pas confirmée *in vivo*, le développement peut se poursuivre avec mise en place de nouveaux tests éventuellement. Il ne s'agira pas ici d'un effet adverse, mais d'une préoccupation (concern) ou juste d'un indicateur d'activité de perturbateur endocrinien.

L'étape suivante consiste à valider ces résultats par des études publiées dans la littérature (reprotoxicité, carcinogénèse...).

L'identification d'un PE, devra ensuite passer par l'évaluation de la pertinence des effets trouvés par rapport à l'Homme, la spécificité (effets endocrines à des doses inférieures aux autres types d'effets), le niveau d'exposition, la durée de l'exposition ou le délai d'apparition, la nature/sévérité/incidence des effets adverses, le nombre d'espèces sensibles. La combinatoire du délai d'apparition des effets et de la dose est prise en compte pour approcher la puissance d'effet PE d'une molécule.

L'ECETOC propose ensuite que pour le PE de catégorie 1, seuls les produits ayant une marge inférieure à 1000 par rapport à la MOE (*Margin Of Exposure*) soient considérés comme PE et pas ceux dont la marge est supérieure à ce seuil. Pour ces derniers, une évaluation du risque serait effectuée.

Question 6 : quelle devrait être la contribution du public (parties prenantes : ONG, industriels, notamment) dans une évaluation du risque ?

La définition des PE doit répondre à un canevas rigoureux de niveaux de preuve (IPCS MoA). Une définition précise et bien comprise des critères de définition des PE est indispensable avant la définition de nouveaux endpoints ou de nouveaux essais.

Les débats actuels sur les critères d'exclusion des PE doivent avancer du stade de concept au stade de l'exercice pratique sur des exemples.

Les PE doivent être discriminés sur le plan réglementaire entre ceux de niveau de risque élevé et ceux de niveau de risque faible.

Des éléments d'incertitude actuels peuvent être récapitulés ainsi et éventuellement donner lieu à des échanges pour mettre au point de nouveaux protocoles:

- La notion de seuil (c'est la dose qui fait le poison) ne serait pas applicable aux PE.
- Les effets potentiels à très faibles doses ne sont pas explorés par le champ de la toxicologie classique (millième de la NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*))
- L'effet des mélanges n'est pas exploré.
- La différence de sensibilité des individus en fonction des différentes étapes de la vie n'est pas prise en compte de façon complète en dehors de la reproduction sur deux générations. La notion de fenêtre d'exposition mérite d'être approfondie.
- Sur le plan épidémiologique, le rôle des produits chimiques de synthèse, des produits chimiques naturels et du mode de vie (alimentation, exercice physique..) doit être pris en compte dans l'apparition des troubles de la fertilité /de l'appareil reproducteur.

Compte rendu de l'audition de Pierre Jouannet

Audition réalisée à l'Anses le 27 juin 2011

La première question est la **définition d'un effet perturbateur endocrinien**. Pour ma part, la définition qui me convient le mieux, est celle donnée par l'IPCS en 2002, dans le rapport fait à la demande de l'OMS qui définit **les perturbateurs endocriniens comme une ou des substances exogènes**, (qui peut être une hormone naturelle exogène mais ce ne sont pas les hormones de l'intérieur du corps) qui vont altérer une ou des fonctions du système endocrinien causant des effets délétères sur la santé d'un individu et sa descendance.

Cela étant dit, il demeure important, pour toutes les substances évoquées comme « perturbateurs endocriniens », d'identifier les cibles de la perturbation endocrinienne ; il ne suffit pas de dire qu'une substance est un perturbateur endocrinien, encore faut-il savoir quelle est la cible et le mécanisme d'interférence sur la régulation endocrinienne. Si l'on prend l'exemple de la testostérone, il pourra s'agir d'une implication au niveau de sa synthèse, de son métabolisme, de son transport dans le sang et de son action au niveau des récepteurs et de leur cible cellulaire. Il y a donc de multiples niveaux possibles d'action et, à mon avis, nous n'avons pas toujours de démonstration claire que tel ou tel type de substance puisse interférer à tel ou tel niveau de la régulation endocrinienne.

A la question de comment j'ai rencontré ces questions posées dans ma trajectoire professionnelle, je dois dire que c'est à la fin de mes études de médecine, dans les années 60 que j'ai commencé à travailler dans le domaine de la reproduction, champ qui à l'époque n'existait pas en médecine. Je me souviens avoir vainement cherché un laboratoire médical pour faire mon DEA qui s'est finalement déroulé chez C. Thibault à l'INRA sur le sujet de la capacitation des spermatozoïdes. Puis, Georges David m'a recruté dans le premier laboratoire qui s'occupait de stérilité masculine à l'Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP) et qui a créé le premier CECOS au début des années 70. À l'époque, nous collaborions avec l'équipe de Daniel Schwartz et en 1981, avec Alfred Spira, nous avons organisé le colloque Inserm « *Human fertility factor* » qui s'intéressait aux facteurs de fertilité dans l'espèce humaine. Ensuite, dans le cadre d'une restructuration de l'AP-HP mon équipe et mon activité ont été transférés à l'hôpital Cochin, où nous avons créé un laboratoire menant des activités de soin et de recherche dans le domaine de la reproduction.

En fait, pour être plus précis sur l'histoire qui nous intéresse, celle-ci a démarré en 1992 lors de la publication de l'équipe de Niels Skakkeback rapportant une diminution historique de la qualité spermatique chez des hommes en bonne santé. Cette publication a connu un fort retentissement à la fois dans le monde scientifique et à l'extérieur. À cette époque, nous faisons partie des personnes très sceptiques sur les conclusions de cette étude, pour des raisons liées à l'hétérogénéité des populations étudiées, à la diversité des centres où avaient été faites les études et aux variations méthodologiques utilisées.

Avec les personnes qui travaillaient avec moi, et notamment avec Jacques Auger, nous nous sommes dit que nous avions dans notre centre le moyen de pouvoir apporter des éléments de réponse à cette hypothèse d'un déclin de la qualité du sperme ! En effet, au sein de notre CECOS, créé en 1973, la standardisation des conditions de recueil de données, la qualité méthodologique de l'examen du sperme, la systématisation des informations recueillies chez les hommes qui se présentaient avaient créé des conditions tout à fait exploitables pour analyser le sperme sur une période assez longue. Ainsi, en 1992, nous avions alors vingt années de recrutement homogène de donneurs de sperme (père de famille et donc en principe fertile, ou ayant fait fait la preuve de sa fertilité, des hommes en bonne santé, le tout dans dans des conditions socioéconomiques de recrutement sans évolution notable pendant toute cette période). De plus nous connaissions l'âge des hommes (on sait que la qualité du sperme change avec l'âge) et le délai d'abstinence sexuelle qui avait précédé le recueil du sperme (nous avons déjà démontré, dans les années 80 avec D Schwartz, la relation entre le délai d'abstinence sexuelle et la qualité du sperme).

Nos résultats, obtenus sur une population de 1 500 hommes et sur une période de 20 années, ont montré une baisse de la concentration des spermatozoïdes (qui était aussi une baisse de la quantité totale de spermatozoïdes dans l'éjaculat ce qui, à mon avis, est le meilleur reflet de la production testiculaire) et une diminution du pourcentage de spermatozoïdes mobiles et morphologiquement normaux. Notre étude montrait donc que la diminution de la production spermatique était non seulement quantitative mais aussi qualitative ! Fait notable, les modifications observées ne dépendaient pas uniquement de l'année du recueil du sperme mais aussi de l'année de naissance des hommes. La publication (après de longues tractations) de ce papier par le *New England Journal of Medicine* nous a permis de collaborer ensuite étroitement avec l'équipe de Niels Skakkeback (Danemark) et celle de Jorma Toppari (Finlande).

Nous avons des arguments pour penser qu'il pouvait y avoir des variations géographiques de la production du sperme. En effet nous avons mené une étude rétrospective sur des donneurs de sperme recrutés de manière identique dans huit CECOS qui avait trouvé une différence assez importante du nombre total de spermatozoïdes entre plusieurs centres, notamment Caen, Paris et Toulouse. Dans le cadre d'un programme européen réunissant des équipes situées à Copenhague (Danemark), Édimbourg (Écosse), Turku (Finlande) et Paris, une étude prospective a été entreprise pour mettre en évidence d'éventuelles variations géographiques de la qualité du sperme humain. Pour homogénéiser le recrutement, elle a été menée chez des partenaires de femmes enceintes - à savoir des hommes qui venaient de procréer en principe récemment. Les méthodes d'analyse du sperme étaient standardisées avec des contrôles de qualité rigoureux. Les résultats ont montré une différence significative de la production quantitative et qualitative des

spermatozoïdes entre ces quatre villes. La ville où la production spermatique était la plus élevée étant Turku et la plus faible Copenhague, Paris étant proche de Copenhague et Édimbourg à un niveau intermédiaire.

Ensuite, les travaux de l'équipe se sont poursuivis en particulier avec Jacques Auger et Florence Eustache dont les recherches ont plus récemment évolué vers des études plus toxicologiques, pour essayer de comprendre les mécanismes d'action sur les fonctions génitales mâles de substances ayant des propriétés oestrogéniques et anti androgénique.

Pour revenir à nos premiers travaux (qui nous indiquaient déjà que le sujet était d'importance) et à leur médiatisation, avec Alfred Spira et Bernard Jegou nous avons rencontré des conseillers des Ministres de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, de la Santé, de l'Environnement, qui nous ont reçus très gentiment et puis, il ne s'est strictement rien passé vraiment, rien de rien, au niveau des pouvoirs publics. Les organismes de recherche n'ont pas manifesté beaucoup plus d'intérêt pour ces questions. À l'époque, mon groupe de recherche a été candidat pour être créé en tant qu'unité Inserm et bien entendu, notre candidature n'a pas été retenue. Nous ne réunissions sans doute pas les critères pour être créé en tant qu'unité, ni le niveau, ni les qualités ! Mais, je me souviens très bien d'une réflexion (et qui m'a vraiment marqué) faite le jour de mon audition devant le Conseil scientifique de l'Inserm par un des membres du jury, déclarant : « compter des spermatozoïdes, ce n'est pas de la recherche » !

Une autre de vos question est « quel est l'impact des perturbateurs endocriniens et des reprotoxiques de catégorie 3 sur la reproduction et la fertilité » ?

Je ne suis pas capable de répondre à cette question car je ne connais pas l'impact des produits de la liste de catégorie 3. En ce qui me concerne ainsi que les gens autour de moi, nous nous sommes posés la question de manière différente, à savoir que nous ne sommes pas partis des perturbateurs endocriniens mais de leurs effets éventuels.

Ainsi, notre question a été : Y a-t-il des modifications des fonctions génitales de l'homme ? Et si on observe des différences, comme je vous l'ai montré pour la qualité du sperme, quelles sont les hypothèses qui peuvent être évoquées pour expliquer ces variations ? Ensuite, parmi ces hypothèses, quelles sont les données qui permettent de suspecter le rôle de substances qui agissent comme des perturbateurs endocriniens ?

Donc, on ne part pas de la substance, on part de la cible, c'est-à-dire, en l'occurrence, l'espèce humaine et son appareil génital. De mon point de vue, parmi les perturbations des fonctions génitales, celle sur laquelle on a les données les plus fiables et les plus intéressantes, c'est le cancer des testicules. Pourquoi ? Parce que le cancer des testicules est un cancer qui touche l'homme jeune et son incidence n'est donc que peu influencée par le vieillissement de la population comme c'est le cas du cancer de la prostate ou du sein. D'autre part, les conditions du diagnostic du cancer du testicule se sont peu modifiées avec le temps. Le cancer du testicule est donc pour moi un bon modèle. D'après l'analyse des registres existant, on constate dans tous les pays du monde une augmentation de son incidence sur une courte période correspondant à la deuxième moitié du 20^e siècle. Il existe aussi des variations géographiques fortes. Ainsi en Europe, on peut remarquer un axe Nord/Sud allant de la Norvège à l'Allemagne en passant par le Danemark où l'incidence est la plus forte.

Il est aussi intéressant de rapprocher les différences observées de l'incidence du cancer du testicule de celles concernant les autres altérations de l'appareil génital comme l'incidence des cryptorchidies ou les modifications de la production des spermatozoïdes.

Ainsi, le Danemark est apparemment le pays où l'on trouve la qualité spermatique la moins bonne, où il y a le plus de cancers du testicule, le plus de cryptorchidies et d'hypospadias alors que c'est le contraire en Finlande. Existe-t-il un lien entre ces différentes pathologies ?

D'autre part, sachant que certaines des anomalies comme la cryptorchidie et l'hypospadias sont le reflet de perturbations qui se produisent pendant la vie fœtale, est-ce que ce que nous observons est lié à des événements prénataux ou périnataux ?

Une étude intéressante comparative a analysé l'évolution du volume testiculaire de très jeunes garçons nés à Copenhague et à Turku : identique à la naissance, ce volume présente ensuite une

croissance plus importante à Turku qu'à Copenhague mettant en évidence que les testicules des jeunes garçons se sont développés de manière plus importante et plus rapide en Finlande qu'au Danemark. L'hypothèse la plus vraisemblable est que ceci est la conséquence d'une prolifération sertolienne différente dans les deux pays. Or on sait aussi qu'il y a un lien entre la quantité et la qualité des cellules de Sertoli mises en place à cette époque et la production des spermatozoïdes à l'âge adulte.

Comment expliquer le lien avec le cancer du testicule ? L'hypothèse développée par l'équipe danoise de Niels Skakkebaek est qu'une dysgénésie du développement testiculaire, impliquant peut-être les cellules sertoliennes, serait à l'origine d'un défaut de différenciation des gonocytes souches (à la base de la spermatogonie) pouvant aboutir en une transformation de la cellule germinale en une cellule pré-cancéreuse (carcinome *in situ*), avec une possible évolution vers un cancer du testicule à l'âge adulte.

Reste à savoir ce qui est à l'origine de ces dysgénésies testiculaires ? Probablement des anomalies génétiques mais celles-ci ne peuvent expliquer à elles seules des variations aussi marquées et aussi rapides sur l'augmentation de l'incidence du cancer du testicule ou la baisse de la production des spermatozoïdes. D'où l'hypothèse que des facteurs environnementaux pourraient être responsables des anomalies du développement testiculaire. En fait, il peut très bien y avoir une intrication à la fois de facteurs génétiques et de facteurs environnementaux.

Comment ces facteurs environnementaux peuvent-ils agir ? Si la mère est exposée à des substances pendant la période prénatale, il faut que celles-ci passent la barrière placentaire et aillent agir directement sur le fœtus mâle. Mais si elles perturbent la fonction sertolienne, il y a de fortes chances que leurs effets soient, alors, irréversibles. En revanche, des facteurs environnementaux se manifestant à l'âge adulte quand l'appareil génital est pleinement fonctionnel, la toxicité peut être réversible si elle n'est pas trop importante. C'est ce qui se passe par exemple en cas de chimiothérapie anticancéreuse. Ce type de traitement peut altérer gravement la spermatogénèse mais les hommes récupèrent souvent une spermatogénèse normale quand le traitement est arrêté.

D'autres facteurs physiques et chimiques sont aussi susceptibles d'agir : radiations, chaleur, facteurs microbiologiques, facteurs psychosociaux (tabac, nutrition), substances chimiques. Tous ces facteurs peuvent de plus interagir entre eux, ce qui complexifie d'autant le problème.

Sans rentrer dans le détail des nombreuses études menées sur les relations entre facteurs environnementaux et pathologies de la sphère reproductrice masculine, je citerai quelques travaux qui me semblent intéressants par la diversité de leurs approches :

- Méta-analyse de Melissa J. Perry et al., Hum. Reprod. Update, 2008, 14, 233-42, qui met en évidence la fréquence des altérations de la qualité du sperme chez les hommes qui manipulent des pesticides soit en les fabriquant dans les usines soit en les utilisant en agriculture. .
- Etude de Katherine McGlynn et al, J Natl Cancer Inst 2008;100: 663 – 71 suggérant un lien entre l'exposition à p,p'-DDE et à des chlordanes avec le risque de développer un cancer du testicule
- Etude de Bouskine et al., EHP, 2009, 117, 1053-58, montrant in-vitro que le bisphénol A à faible dose peut favoriser la prolifération de cellules séminomateuses.
- Etude de Florence Eustache et al., EHP, 2009, 117, 1272-79 montrant comment une exposition in utero à de faibles doses d'un mélange de génistéine et de vinclozoline peut altérer de développement de l'appareil génital de rats mâles..

Concernant les phtalates, plusieurs études ont montré que certaines femmes exposées aux phtalates pendant leur grossesse avaient plus de risque d'avoir des enfants avec un hypospadias

ou une cryptorchidie : Lambrot et al., EHP, 2009, 117(1), p. 32-37 ; Chauvigné et al., EHP, 2009, 117(4), p. 515-21.

Une étude anglaise a aussi montré que des femmes coiffeuses et professionnellement exposées aux aérosols de manière assez importante pendant leur grossesse (aérosols étant des substances pouvant contenir des substances agissant comme des perturbateurs endocriniens) avaient plus souvent des enfants avec des hypospadias, Gillian Ormond et al., EHP, 2009, 117(2), p. 303-7.

Quelles sont la nature et les sources d'incertitude, la notion de risques sanitaires de ces substances ?

Il y a beaucoup d'incertitudes. D'un côté, il y a de plus en plus de travaux publiés, mais de l'autre, il n'y a rien qui est vraiment complètement et clairement démontré. Comment hiérarchiser les risques ? C'est difficile. Encore une fois, par exemple, si on considère la production des spermatozoïdes et ses conséquences fonctionnelles sur la santé des populations, le fait d'avoir une production spermatique qui passe de 120 millions à 80 millions/ml pour un homme adulte, ce n'est pas très grave. Mais si la proportion des hommes qui ont moins de 20 ou 10 millions/ml de spermatozoïdes augmente les conséquences sur la santé reproductive des hommes seront très importantes.

Quelles seraient les actions prioritaires à entreprendre, en matière de recherche, d'encadrement législatif, réglementaire, incitations économiques ?

Le dernier chapitre d'un livre récent (Bernard Jégou, Pierre Jouannet, Alfred Spira, *La fertilité est-elle en danger ?*, Paris, La Découverte, 2009), est consacré à ces questions : qu'est-ce qu'il serait intéressant ou utile de développer en matière d'information, information du public, information des scientifiques, en matière de recherche et développement, etc.

Je suis personnellement frappé par la dispersion des énergies et des expertises, par la multiplication des groupes qui travaillent et qui réfléchissent sur ces questions sans que les conséquences en terme d'actions soient bien visibles.

Aux Etats-Unis, l'EPA, l'Agence de protection de l'environnement a publié un rapport (US EPA, Design for the environment program. Alternatives assessment criteria for hazard evaluation, Draft, 2010) qui porte sur l'évaluation des risques, spécifiquement pour les produits chimiques environnementaux qui agissent sur le corps. Dans ce rapport, il est proposé d'évaluer des niveaux de risque, élevés, modérés ou faibles, en tenant compte d'un certain nombre de facteurs concomitants comme les concentrations des substances, leurs moments d'action et puis aussi la nature des effets. Je suis assez d'accord avec cette approche en affinant l'analyse sur les effets pathologiques ou fonctionnellement perturbants.

Une autre initiative de l'EPA, que je trouve intéressante, est la démarche entreprise pour trouver une alternative à l'emploi du Bisphénol A dans les encres et dans les papiers utilisés pour les caisses électroniques. Les personnes qui sont associées à cette action sont à la fois celles qui fabriquent les papiers et encres, celles qui commercialisent le papier et les encres et puis, les usagers de ces papiers, les responsables académiques, les responsables d'organisations non gouvernementales. Et ainsi, a été constitué un groupe réunissant les industriels, les responsables institutionnels, les scientifiques, les usagers, qui vont ensemble essayer de trouver une solution à cette question de la présence du Bisphénol A, dont on ne sait pas exactement quelles sont les conséquences, mais qui pose un problème de société ! Je trouve que ce type de démarche, très concrète et précise, peut-être utile et peut aussi jouer un rôle dans la perception des phénomènes.

Question : Est-ce que vous êtes favorable au principe de précaution et est ce vous pensez que cela est du ressort de la société, des acteurs publics, voire du ressort des chercheurs ?

Je pense que les décisions à prendre sont des décisions sociales globales. Je ne pense pas que ce soit du ressort des chercheurs, c'est du ressort des politiques. Maintenant, il ne faut pas déresponsabiliser les chercheurs. S'ils n'ont pas à prendre les décisions, leur responsabilité est d'apporter les éléments qui permettent de prendre les décisions dans leurs certitudes et dans leurs incertitudes. C'est difficile, mais je pense que les chercheurs jouent un rôle important. Cependant

je suis conscient que les politiques sont amenés à prendre des décisions qui ne sont pas uniquement basées sur l'expertise des chercheurs. Il peut y avoir d'autres éléments qui entrent en jeu. Et donc, pour essayer d'être honnête dans ma réponse, je dirais que si je suis, plutôt en faveur du principe de précaution, je ne suis pas pour un principe de précaution qui serait appliqué de manière excessive et militante ou qui répondrait avant tout à des conditions émotionnelles ou irrationnelles. Ce qui me semble important, c'est l'argumentation, c'est d'avoir les bons arguments pour prendre la décision. Ce n'est pas facile à faire, mais je pense qu'effectivement, ce serait mieux. Donc oui, on peut prendre des décisions, même dans des situations d'incertitude. Il faut accepter l'idée qu'on puisse se tromper et il faut accepter l'idée qu'on puisse revenir en arrière même si ce n'est pas facile.

Compte rendu de l'audition de Laurence Musset et Nathalie Delrue

Audition réalisée à l'Anses le 27 septembre 2011

Laurence MUSSET, OCDE, responsable du programme sur les Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques

Nathalie DELRUE, OCDE, travaille dans le domaine des Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, particulièrement celles développées dans le cadre de la santé humaine

Question 1 : définition d'un effet perturbateur endocrinien ? Parmi les définitions scientifiques et réglementaires d'un perturbateur endocrinien qui sont proposées par divers organismes, quelle est celle qui à votre avis semble le mieux convenir ?

L'OCDE a organisé un *workshop* en 2009 à Copenhague durant lequel il y a eu des discussions sur la définition. La majorité des experts a préféré la définition de l'OMS.

Travaillant sur l'environnement tout autant que sur la santé humaine, la notion de *population* est essentielle. L'OCDE a eu besoin, dans le cadre du développement d'un document-guide sur l'évaluation des perturbateurs endocriniens – qui est en cours d'adoption – d'avoir une autre définition incluant la notion de *perturbateurs possibles*.

« *A possible endocrine destructor is a chemical that is able to alter the functioning of the endocrine system. But for which information about possible adverse consequences of that alteration in an intact organism is uncertain* ». Cette définition fait la distinction entre le fonctionnement, le mécanisme et l'effet adverse.

Cette définition est différente de la définition de « perturbateurs potentiels » de l'OMS, également mentionnée dans le document guide.

Question 2 : quel est selon vous l'impact des PE et des reprotoxiques de cat. 3 sur la reproduction et la fertilité ?

- On a très peu de données quantitatives concernant l'impact des substances chimiques sur la santé, et pas seulement sur la fertilité ou sur la reproduction, mais il y a suffisamment de preuves aujourd'hui pour établir qu'il y a effectivement un impact important et préoccupant des perturbateurs endocriniens et des reprotoxiques de catégorie 3 sur la fertilité.

- Il reste difficile de mettre en exergue la part relative des perturbateurs endocriniens et d'autres facteurs.
- L'objectif de l'OCDE est d'aider les pays à *augmenter l'évidence qu'une substance est, ou n'est pas, un perturbateur endocrinien*.
- Le problème est la gestion des *incertitudes* : problème des mélanges, des très faibles doses

Il n'y a pas de réglementation vraiment opérationnelle. Il existe bien dans la législation, des grands principes, mais des essais spécifiques, qui permettraient sans doute de mettre en évidence beaucoup plus d'effets, ne sont pas encore requis.

Question 3 : comment avez-vous rencontré ces questions dans votre trajectoire de recherche, de praticien, d'innovateur, de militant ?

Nathalie DELRUE : dans le cadre de son activité à l'INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques)

Laurence MUSSET : dans le cadre de son activité au ministère de l'Environnement (en tant que responsable du bureau des produits chimiques)

Question 4 : quelles sont la nature et les sources d'incertitude dans l'évaluation des risques sanitaires de substances PE et reprotoxiques de cat. 3 en rapport avec la fertilité et la reproduction ? Comment selon vous peut-on hiérarchiser ces sources et natures des incertitudes ? Comment ces natures et sources d'incertitudes sont-elles prises en compte au quotidien de la régulation du risque ? Quels sont les points de certitude ?

- Une approche, qui s'appuie sur le poids de la preuve est proposée par l'OCDE. Elle est décrite dans le document guide déjà mentionné, et illustrée par le *Conceptual Framework for Testing and Assessment of Endocrine Disruptor* :
- en 2002, un premier Cadre conceptuel pour les essais et l'évaluation des perturbateurs endocriniens a été élaboré. Il a été révisé en 2012.
- Ce Cadre conceptuel décrit cinq niveaux d'information possible qui contribuent au poids de la preuve : (i) informations existantes, telles que les propriétés physicochimiques, les QSARs (*Quantitative Structure Activity Relationship*) et autres approches *in silico*, (2) essais *in vitro* apportant des informations mécanistiques, (3) essais *in vivo* apportant des informations mécanistiques, (4) essais *in vivo* apportant des données sur les effets endocriniens adverses, (5) essais *in vivo* apportant des données plus complètes sur les effets endocriniens adverses et portant sur des parties plus longues du cycle de vie de l'organisme.
- Les études de toxicité à doses répétées d'une ou deux générations permettent d'évaluer les perturbations d'une manière globale ;
- L'OCDE s'est surtout intéressée aux mécanismes liés aux œstrogènes, aux androgènes, aux perturbateurs thyroïdiens et à la stéroïdogénèse.

- L'OCDE a élaboré un *Detailed Review Paper* (DRP), dont l'objectif est de faire des recommandations pour ajouter de nouveaux paramètres aux tests existants ou développer de nouveaux tests pour permettre la détection de substances qui vont perturber les voies empruntant d'autres récepteurs nucléaires que les voies classiquement étudiées.
- L'un des chapitres de ce *DRP* s'intéresse aux *modifications épigénétiques*.

Question 5 : quelles seraient les actions prioritaires à entreprendre (recherche, encadrement législatif ou réglementaire, incitation économique, information, etc.) pour mieux maîtriser les risques liés à ces substances ?

- recherche : Le *detailed review paper* de l'OCDE propose des voies de recherche pour la détection des perturbateurs endocriniens agissant pas des voies encore peu connues. En outre, l'étude des effets liés à l'exposition aux très faibles doses, ou à l'exposition combinée à de multiples substances restent des axes de recherche prioritaires.
- réglementation : créer des critères réglementaires (ce n'est pas du domaine de compétence de l'OCDE, mais des États) ; l'OCDE aimerait que les pays réglementent de façon la plus harmonisée possible les perturbateurs endocriniens ; il faudrait prendre en compte les stades précoces de la vie au niveau réglementaire, cela permettrait une meilleure prévention. Une prévention plus efficace en termes de santé, mais aussi en termes économiques.
- vigilance : il faudrait améliorer le système de surveillance épidémiologique, de biosurveillance, etc. et améliorer l'état des connaissances en termes d'identification des dangers.
- la position globale de l'OCDE : en matière de prévention, il convient d'utiliser plusieurs outils en même temps, selon les objectifs visés ; l'un l'exclut pas l'autre.
- réalisé : la commission OSPAR a évoqué le problème du manque d'efficacité des stations d'épuration pour de nombreuses substances. Une recommandation a été reprise dans le document sur les perspectives environnementales à l'horizon 2050 afin d'améliorer les systèmes d'épuration des eaux usées pour ce type de substances.

Question 6 : quelle devrait être la contribution du public (parties prenantes : ONG, industriels, notamment) dans une évaluation de risque ?

- Les ONG et industriels contribuent aux travaux de l'OCDE sur l'évaluation des dangers de perturbateurs endocriniens potentiels, mais seuls les représentants des gouvernementaux prennent les décisions finales. Des recommandations, des actions prioritaires sont nécessaires pour mieux maîtriser les risques liés à ces substances : Recommandations et actions prioritaires en termes de recherche, d'encadrement législatif ou réglementaire, d'incitation économique et *d'information du public* et des acteurs économiques.
- Plusieurs pays ont souligné la nécessité d'améliorer la *transparence vis-à-vis du consommateur*. Le grand public commence à être éduqué par rapport à ces substances

toxiques, mais il n'a pas toute l'information et ne sait pas forcément ce qui constitue son environnement.

Question 7 : que pensez-vous du choix entre une stratégie de substitution et l'application du principe de précaution ?

- l'OCDE est favorable à la substitution avec des substances moins dangereuses, et la substitution a été incluse dans le programme de travail. L'application d'une approche de précaution est du ressort de chaque pays, la précaution pouvant être interprétée différemment selon les pays.

Compte rendu de l'audition de l'UFC-Que Choisir représentée par Olivier Andrault

Audition réalisée à l'Anses le 18 novembre 2011

Olivier Andrault, Chargé de mission « Alimentation » de l'UFC-Que Choisir¹⁹, a accepté de répondre aux questions posées par l'Anses dans le cadre de l'enquête conduite auprès de différentes parties prenantes sur les représentations sociales des perturbateurs endocriniens (PE).

L'UFC-Que Choisir est une association loi 1901 à but non lucratif créée en 1951. Elle comprend près de 170 associations locales regroupant plus de 141 780 adhérents et assurant 300 points d'accueil répartis sur l'ensemble du territoire français. Les responsables de l'UFC-Que Choisir sont des bénévoles assistés d'une équipe de salariés : ingénieurs, juristes, journalistes... L'UFC-Que Choisir siège au conseil de *l'International Consumer Research and Testing (ICRT)*, structure de coopération entre les grandes associations de consommateurs dans différents pays. Sur son site internet, l'UFC-Que Choisir stipule qu'elle est « totalement indépendante des fabricants, des commerçants, des activités de services, des syndicats, des groupes de presse ou financiers, des partis politiques, du gouvernement et, plus généralement, de tout intérêt ou groupement autre que ceux des consommateurs. »

Le siège parisien de l'association s'occupe plus particulièrement des questions liées à l'alimentation (nutrition/prévention de l'obésité, étiquetage des produits alimentaires, OGM, perturbateurs endocriniens...).

Question 1 : définition d'un effet perturbateur endocrinien ? Parmi les définitions scientifiques et réglementaires d'un perturbateur endocrinien qui sont proposées par divers organismes, quelle est celle qui à votre avis semble le mieux convenir ?

L'UFC n'a pas de position particulière sur cette question qui relève plus à son avis des experts eux-mêmes. Olivier Andrault rappelle que les membres de l'UFC ont une formation « généraliste »

¹⁹ Internet : <http://www.quechoisir.org/>

et ne sont en aucun cas des toxicologues. Leur rôle est d'identifier les problématiques émergentes ou en développement pouvant toucher les consommateurs. Après avoir identifié les produits de consommation susceptibles des effets délétères sur la santé, l'UFC réalise des tests pour en préciser l'impact potentiel chez les utilisateurs.

L'UFC constate qu'à l'heure actuelle, les consommateurs semblent plus préoccupés par les produits alimentaires que par d'autres types de produits (ameublement, nettoyage, bricolage...).

Olivier Andrault demande de son côté aux experts de l'Anses et du GT présents lors de l'audition comment limiter le niveau d'incertitude important qui existe sur le sujet des perturbateurs endocriniens. Il les interroge notamment sur leur position vis-à-vis de l'évaluation de la relation dose-réponse dans un domaine où des effets seraient possibles à de très faibles doses, où il existe des mélanges avec une possibilité d'interaction et où il faut tenir compte des fenêtres d'exposition.

Question 2 : quel est selon vous l'impact des PE et des reprotoxiques de cat. 3 sur la reproduction et la fertilité ?

Comme précédemment, Olivier Andrault estime que ce n'est pas à l'UFC de répondre à cette question.

Question 3 : comment avez-vous rencontré ces questions dans votre trajectoire de recherche, de praticien, d'innovateur, de militant ?

L'UFC-Que Choisir se préoccupe de tous les produits de consommation contenant des PE et qui, du fait de leur mode d'utilisation, sont susceptibles d'avoir un impact sur la santé des consommateurs quel que soit leur âge et quelle que soit la ou les voies d'exposition : orale, cutanée et/ou par inhalation. Sont concernés les aliments et emballages alimentaires ainsi que les produits pouvant avoir un impact sur la qualité de l'air intérieur (verniss, colles, peintures, ameublement, nettoyants ménagers, etc.), ou encore les produits de consommation susceptibles d'apporter des PE par contact comme certains jouets pour jeunes enfants.

Olivier Andrault rappelle les principales actions de l'UFC-Que Choisir qui comprennent :

1°) La recherche de la présence de composés potentiellement PE au moyen de tests effectués sur un grand nombre de produits de consommation.

Olivier Andrault cite quatre enquêtes réalisées par l'UFC pendant la dernière décennie :

- En octobre 2001 sur les sièges auto pour bébé : <http://www.quechoisir.org/auto/actualite-bebe-confort-ferofix-siege-auto-toxique>
- En août 2007 sur les migrations à partir des joints des couvercles de certains bocaux en verre : http://test-comparatif.quechoisir.org/F-REF4409-emballages-alimentaires/I-Page2_35.html
- En avril 2010, sur le bisphénol A dans les biberons, canettes, conserves et bonbonnes à eau : <http://test-comparatif.quechoisir.org/F-REF8119A-biberons>
- En septembre 2011, sur la migration des encres : <http://www.quechoisir.org/alimentation/securite-hygiene/enquete-emballages-alimentaires-les-hydrocarbures-migrent?cc=1320768854>

2°) **Les demandes d'information et de données** auprès a) des **Agences** d'évaluation des risques sanitaires dans le cadre de saisines ou de consultations et b) des **Pouvoirs Publics** responsables de la gestion du risque.

3°) **Une prise de position vis-à-vis des autorités nationales ou européennes** pour faire évoluer le cadre réglementaire en matière d'évaluation, d'autorisation et de contrôle des matériaux.

Question 4 : quelles sont la nature et les sources d'incertitude dans l'évaluation des risques sanitaires de substances PE et reprotoxiques de cat. 3 en rapport avec la fertilité et la reproduction ? Comment selon vous peut-on hiérarchiser ces sources et natures des incertitudes ? Comment ces natures et sources d'incertitudes sont-elles prises en compte au quotidien de la [recherche], de la [pratique médicale], de l'[évaluation de risque] et de l'[innovation industrielle], la [régulation du risque] [selon vos domaines de compétence] ? Quels sont les points de certitude ?

Olivier Andrault passe sur cette question, en invoquant à nouveau son manque de légitimité pour y répondre.

Question 5 : quelles seraient les actions prioritaires à entreprendre (recherche encadrement législatif ou réglementaire, incitation économique, information, etc.) pour mieux maîtriser les risques liés à ces substances ?

Olivier Andrault rappelle que la réponse à cette question doit être interprétée dans un contexte général d'incertitudes portant aussi bien sur la réalité et l'intensité des effets des PE sur la santé des consommateurs, que sur le niveau et les sources d'exposition.

Les actions de l'UFC visent à la fois à réduire le niveau de ces incertitudes concernant les effets potentiels des PE seuls ou combinés et à limiter les risques pour les consommateurs, en particulier les plus jeunes. Compte tenu de la difficulté à obtenir rapidement des certitudes scientifiques sur les composés incriminés, l'UFC estime qu'une réflexion sur la mise en œuvre du principe de précaution est nécessaire.

Selon l'UFC, les actions à entreprendre en priorité sont les suivantes :

- Tout d'abord, le **développement d'une méthodologie** permettant d'évaluer les effets des PE à faible doses, seuls ou combinés.
- La vérification au moyen de cette méthodologie, par les instances publiques en charge de la recherche et par les Agences d'évaluation, des **effets sur l'être humain** des principales substances déjà autorisées et susceptibles d'être des PE. Selon l'UFC, une liste des substances prioritaires devrait être définie en relation avec le niveau de dangerosité de la substance, en tenant compte des fenêtres d'exposition pendant lesquelles la sensibilité est accrue.
- L'inclusion dans les procédures d'évaluation (et de réévaluation) des substances PE d'un volet sur les **effets à faible dose** et d'un volet sur les **effets cumulatifs potentiels** avec d'autres substances susceptibles d'être rencontrées du fait du produit lui-même ou de son mode d'utilisation.
- L'évaluation des **niveaux d'exposition** à ces substances pour les différents profils de consommateurs sur la base des nouvelles données susceptibles d'être produites (faibles doses, effets cumulatifs, fenêtres d'exposition).
- L'**information des consommateurs**. Olivier Andrault précise la position de l'UFC en matière d'étiquetage qui ne doit pas être une solution de facilité utilisée

comme une alternative systématique à de véritables mesures de gestion du risque. En effet, les consommateurs ne peuvent pas porter la responsabilité des autorités et/ou des professionnels dans la réduction du niveau d'exposition aux PE alors qu'ils sont déjà submergés d'informations complexes et parfois contradictoires dans leur vie quotidienne. La solution prioritaire pour limiter l'exposition des consommateurs à une substance n'est donc pas l'étiquetage mais l'interdiction par les pouvoirs publics de la substance incriminées et sa substitution. L'étiquetage ne pourrait se concevoir que de manière exceptionnelle, lorsqu'aucune autre mesure ne permettrait de diminuer rapidement l'exposition des consommateurs. Elle devrait être obligatoirement limitée dans le temps, dans l'attente d'une solution d'interdiction et/ou de substitution.

- Les modalités de mise en œuvre d'une politique de **protection des consommateurs via une réglementation** spécifique.

Question 6 : quelle devrait être la contribution du public (parties prenantes : ONG, industriels, notamment) dans une évaluation de risque ?

L'UFC rappelle l'intérêt de la séparation du processus d'évaluation de celui de gestion, comme c'est le cas en France. L'association estime que l'Anses doit pouvoir à tout moment solliciter les parties prenantes afin d'obtenir des données utiles pour l'évaluation des risques (tests, analyses, composition, volume de commercialisation, etc.). Toutefois, l'UFC souligne la nécessité pour l'Agence de conserver son indépendance sans céder aux pressions des parties prenantes dans ses démarches d'évaluation de risque sanitaire et d'élaboration de recommandations.

Question 7 : que pensez-vous du choix entre une stratégie de substitution et l'application du principe de précaution ?

Olivier Andrault juge la réponse à cette question délicate en l'état actuel des connaissances. En effet, la substitution constitue une solution possible dans certains cas mais soulève un problème lorsque la toxicité des produits de substitution est moins bien connue que celle de la substance d'origine.

Annexe 4 : Grille d'analyse thématique utilisée pour le codage

DEFINITION D'UN PERTURBATEUR ENDOCRINIEN

Choix d'une définition de référence (par exemple, parmi les définitions proposées – EPA, OMS, etc., ou tout simplement déclarer qu'aucune définition n'existe)

EFFETS

Le périmètre des effets d'un PE :

effets directs *versus* effets indirects (le rôle relatif des effets primaires et secondaires dans la définition de la perturbation endocrinienne) ;

Niveau biologique de la perturbation : cellule, organisme, un ou plusieurs organes

Relation dose – réponse, faibles doses

Le mécanisme d'action

Le temps d'observation (effets intergénérationnels, etc.)

Le potentiel des divers types de tests (*in vitro*, *in vivo*) à permettre l'identification de la perturbation endocrinienne (et « Place des études épidémiologiques dans l'identification des effets »)

Relations entre PE et reprotoxiques de catégorie 3 (incluant la place des effets sur la reproduction par rapport à l'ensemble des effets des PE)

Modalités de validation des études

Epigénétique

EXPOSITION

La notion d'agent exogène

La fenêtre d'exposition

Une substance *versus* cocktail de perturbateurs

Précision de la mesure de l'exposition

Route/voie d'exposition

RISQUE

Signaux d'alerte potentiellement indiquant des effets des PE / degré de preuve sur la relation causale entre PE et l'effet évoqué

VARIABILITÉ

Variabilité intra-populationnelle : vulnérabilité différenciée des cibles (exemple : sub-populations)

OUTILS ET METHODE D'EVALUATION DU RISQUE

Extrapolation – de l'animal à l'homme, de la cellule à l'organisme...

Le niveau de preuve qui peut être fourni par divers types de tests (*in vitro*, *in vivo*...), lorsque des actions doivent être engagées

Rôle de l'environnement *versus* rôle des gènes

Classification high/low concern

ACTIONS ENVISAGEABLES

Effort de recherche

Maintient, adaptation ou renouvellement des dispositions réglementaires actuelles

Substitution

Information du public

Principe de précaution : seuil de déclenchement de son utilisation dans la réglementation (exemple : dans la substitution)

Priorités d'évaluation des risques des PE

PARTICIPATION

Relations entre experts et les acteurs

Relation entre recherche et son contexte sociopolitique

Débat public

AUTRES CATEGORIES

Représentativité (quel est l'acteur dont se revendique la personne auditionnée)

Expertise sur les PE de la personne auditionnée ou de la structure qu'il représente



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr