

COLLOQUE

Perturbateurs endocriniens, eau, santé

A l'occasion de
la **journée mondiale de l'eau**

20 MARS 2018
de 9h30 à 17h30

Événement gratuit
Places limitées, réservez vite votre journée !

POITIERS
Amphi Côme et Damien
Faculté de Médecine et de Pharmacie

PERTURBATEURS ENDOCRINIENS, EAU ET SANTÉ: QUELLES NORMES POUR DEMAIN ?

Évènement parrainé par **Sophie Auconie** co-présidente du Cercle français de l'eau et gouverneure au Conseil mondial de l'eau.



Concepts graphiques : Lucie Zizik






 RéseauEnvironnementSanté •  RéseauES
contact@reseau-environnement-sante.fr



« Le pari était risqué, mais il a été gagné ! Près de 200 personnes pour débattre de l'enjeu des normes pour les Perturbateurs Endocriniens dans l'eau, qui plus est en province... La démonstration a été ainsi faite de la prise de conscience croissante de l'enjeu des Perturbateurs Endocriniens et de la nécessité, comme le recommande la Stratégie Nationale Perturbateurs Endocriniens, de diminuer l'exposition de la population mais aussi de repenser nos réglementations sur la base de la science d'aujourd'hui.

Des solutions existent et ont fait l'objet notamment d'un rapport du Centre de Recherche de l'Union Européenne. Le colloque de Poitiers va pouvoir contribuer à alimenter le débat à l'occasion du réexamen en cours de la Directive européenne.

Merci à tous nos contributeurs qui ont permis le succès de cette manifestation ! »

André CIOLELLA

Président du Réseau Environnement Santé

Sommaire

Ouverture de l'événement.....	4
SESSION 1.....	12
L'Exposition globale aux perturbateurs endocriniens	12
Les perturbateurs endocriniens – une problématique socio-politico-scientifique	12
La notion d'Exposome	13
Le concept de la DOHAD (Origine Développementale de la santé et des maladies)	15
Le mécanisme de l'effet cocktail	17
SESSION 2.....	26
Doses faibles et enjeux forts : focus sur l'eau	26
Évolution de l'analyse de la contamination des milieux aquatiques de 1960 à aujourd'hui	26
Effets sanitaires de l'exposition des femmes enceintes aux perturbateurs endocriniens dans l'eau : BPA, dérivés chlorés du BPA, atrazine	29
Produits domestiques et contamination de l'eau : un problème à traiter à la source	31
De la mesure de la concentration à la mesure de l'effet biologique de l'eau	32
SESSION 3 :	36
Répondre au défi des faibles doses, quelles normes pour demain ?	36
Les perturbateurs endocriniens induisent des enjeux majeurs pour la gestion des eaux	36
La 2e phase de la Stratégie Nationale Perturbateurs Endocriniens	39
Conclusion	40

Ouverture de l'événement

Serge ROBERT

Délégué régional du RES et modérateur de la session 1

Pascal ROBLOT

Doyen de la faculté de médecine et de pharmacie de Poitiers

Marie-Laure GUILLEMOT

Responsable du pôle régional de Santé environnement ARS Nouvelle Aquitaine

Sophie AUCONIE

Co-présidente du Cercle français de l'eau et gouverneure au Conseil mondial de l'eau (en vidéo)

André CICOLELLA

Président du Réseau Environnement Santé

Serge ROBERT, Délégué régional du RES et modérateur de la session

Remercie les participants de leur présence ainsi que les différents sponsors et soutiens de la manifestation.

Pascal ROBLOT, Doyen de la faculté de médecine et de pharmacie de Poitiers



Se réjouit d'accueillir cet événement consacré aux perturbateurs endocriniens, convaincu que la santé environnementale est un sujet de santé publique impliquant une prise de conscience collective et individuelle.

Serge ROBERT, Délégué régional du RES et modérateur de la session

Expose les éléments de contexte régional, en se référant d'abord aux normes nationales désuètes lorsqu'il s'agit de l'état écologique d'eaux brutes au sens de la directive-cadre sur l'eau, au niveau européen (DCE). Ou bien qui varient également avec des seuils différents, selon les champs d'application, comme par exemple la gestion des boues de traitement d'eaux usées ou de dragages des sédiments portuaires, dont les seuils de plus, pour ces derniers, diffèrent selon les pays. Le champ des perturbateurs endocriniens vient de plus bousculer ces normes notamment dans le cadre de l'eau potable, puisqu'ils concernent à faibles doses, voire sous forme nanométrique, les pesticides, les nitrates, les métaux, les résidus médicamenteux, etc.

Avec ses ports, ses bassins industriels et urbains importants, mais aussi une forte activité agricole et viticole, la région Nouvelle Aquitaine réunit ces différents profils. La Charente et son bassin versant est l'un des fleuves les plus pollués de France. L'estuaire de la Gironde l'est tout autant. Le vignoble bordelais, mais également le vignoble charentais, ainsi que les monocultures de céréales en font l'une des régions de France les plus soumises à la pression des pesticides, dont le dépassement des normes en eau potable en 2014 a ainsi affecté 4,6 % de la population desservie. En Poitou-Charentes, les nitrates affichent un dépassement de 1,3 %, les pesticides 6,7 %. De plus, sont régulièrement retrouvées dans l'eau potable des molécules pourtant interdites depuis des années, comme l'atrazine (2003), le metalchlore (2003), le diuron (2008), mais également d'autres pesticides dangereux, comme le fameux glyphosate, l'AMPA, le bentazone

Les travaux de l'ORS ont mis en lumière dans son *Baromètre Santé-Environnement* la forte inquiétude de la population à l'égard des pesticides qui se traduit par une confiance partielle (34%) voire une défiance totale (16%) des Néo-Aquitains vis-à-vis de la qualité de l'eau potable. Des mesures de dilution sont parfois nécessaires et peuvent entraîner des accidents comme cela a été le cas pour 14 communes en janvier dernier qui avaient largement dépassé le seuil acceptable de nitrates. Dans le cadre du PRSE 3 qui prend en compte le champ des perturbateurs endocriniens, l'ARS Nouvelle Aquitaine encourage, voire finance suite à des appels à projets, différentes actions sur ce thème. Par ailleurs, la Direction Générale de la Santé a demandé à l'ARS Nouvelle-Aquitaine d'être un promoteur de l'ensemble des ARS sur les perturbateurs endocriniens, ce qui donc lui confère une responsabilité particulière à cet égard. Enfin, après une collaboration en cours sur un projet du PRSE3 sur la sensibilisation aux perturbateurs endocriniens des femmes enceintes néo-aquitaines en situation de précarité entre l'équipe HEDEX de l'université de Poitiers et le Réseau Environnement Santé, une nouvelle collaboration sera engagée sur la question de l'eau, dans le cadre d'un projet du PRSE3, intitulé « Conduite des actions de l'amélioration des connaissances et de la recherche appliquée sur la qualité de la ressource ».

**Marie-Laure GUILLEMOT, Responsable du pôle régional de Santé environnement
ARS Nouvelle Aquitaine**



Souligne que les perturbateurs endocriniens constitue un sujet de santé publique majeur, complexe, émergent et objet d'une forte l'attente sociétale.

Rappelle que la notion de perturbateurs endocriniens a été évoquée pour la première fois en 1991 lors d'une rencontre de scientifiques à Wingspread relativement à une perturbation endocrinienne ayant affecté la faune. Un certain nombre d'affections sont aujourd'hui suspectées d'être la conséquence d'une exposition à ces perturbateurs : la baisse de la qualité du sperme, l'augmentation de la fréquence d'anomalies du développement d'organes de la fonction de reproduction, l'abaissement de l'âge de la puberté, certains cancers hormono-dépendants, certains cas de diabète, d'obésité et d'autisme. L'âge d'exposition est déterminant, car les impacts semblent principalement consécutifs à l'exposition pendant la période de gestation. Le développement fœto-embryonnaire, la petite enfance et la puberté constituent une fenêtre d'exposition particulièrement sensible.

Selon l'OMS, un perturbateur endocrinien est une substance ou un mélange de substances qui altère les fonctions du système endocrinien et de ce fait induit des effets nocifs pour la santé d'un organisme intact de ses descendants ou de ses sous-populations. Ces substances se retrouvent dans un large spectre de produits de consommation courante allant des produits cosmétiques à l'alimentation en passant par les plastiques, les dispositifs médicaux, les peintures, les jouets, le mobilier, le traitement des cultures, les médicaments. Elles envahissent tous les compartiments de l'environnement : l'air, le sol, l'eau, les poussières. Les perturbateurs endocriniens représentent aussi une grande diversité de familles chimiques aussi bien organiques que minérales et qui peuvent être des contaminants ou des substances naturellement présentes dans l'environnement telles que les hormones phyto-œstrogènes sans compter les substances à usage thérapeutique. Certains composés s'accumulent dans les tissus adipeux des différentes espèces.

La mise en place d'une réglementation relative aux perturbateurs endocriniens se heurte à plusieurs difficultés qui sont liées au mode d'action et au caractère récent des recherches sur le sujet. Si la liste des molécules n'est pas encore arrêtée, le règlement REACH permet, au niveau européen, de recenser, d'évaluer, de contrôler les substances chimiques fabriquées, importées ou mises sur le marché européen. À ce titre, le bisphénol A a été reconnu perturbateur endocrinien pour la santé et pour l'environnement et inscrit sur la liste des substances extrêmement préoccupantes. Concernant les règlements sectoriels, pour les biocides, une procédure inclut les perturbateurs endocriniens présumés et permet qu'un lien de plausibilité de l'effet perturbateur suffise à exclure une substance. Des réflexions sont en cours pour d'autres réglementations sectorielles telles que les cosmétiques. Concernant les pesticides la décision n'est pas encore prise.

La loi de modernisation de notre système de santé du 26 janvier 2016 a introduit la notion d'exposome essentielle pour la compréhension et la gestion des risques liés aux perturbateurs endocriniens, car elle correspond à la totalité des expositions à des facteurs environnementaux que subit un organisme humain de sa conception à sa fin de vie en complément de l'effet du génome. Le PNSE 3 précise que cette nouvelle approche implique un changement de paradigme dans la prise en compte des sources de pollution et d'exposition susceptibles de concourir à l'altération de la santé des individus. L'exposition de la population générale aux perturbateurs endocriniens est peu documentée à ce jour. Du fait de leur nature très variée, ils peuvent se trouver dans l'air, l'eau et les aliments et s'accumuler au fil de la chaîne alimentaire pour se concentrer dans les derniers maillons y compris le lait maternel. Les risques sanitaires associés aux expositions sont cependant peu abordés. La connaissance des liens entre imprégnation et impacts sur la santé reste à approfondir afin de donner des critères d'aide à la décision nationale et communautaire. Il faut prendre en compte les effets cocktail et faibles doses. En effet, la multiplicité des perturbateurs endocriniens et des voies d'exposition interrogent sur un possible effet cocktail difficile à analyser. Les recherches de ces dernières années confirment une dissociation entre la dose et l'effet cumulée avec les effets « cocktail » et remettent en question les raisonnements classiques de toxicologie. La quantité d'hormones nécessaires au fonctionnement du système endocrinien étant très faible, la perturbation de celui-ci peut résulter d'une très faible concentration de substances perturbatrice. Cette relation dose/réponse non monotone rend inopérante l'analyse toxicologique classique consistant à définir des seuils à partir desquels le produit devient nocif.

La stratégie nationale en matière de lutte contre les perturbateurs endocriniens vient d'être évaluée par les inspections générales des ministères de l'Environnement, de l'Agriculture et de la Santé ce qui ouvre la voie à l'écriture d'une nouvelle stratégie nationale. L'ARS Nouvelle Aquitaine pilotera avec la DREAL AURA le groupe de travail interministériel relatif à la sensibilisation et à la formation en prévision de l'écriture de cette seconde version. Les inspections générales ont noté que l'intensité des actions vis-à-vis des perturbateurs endocriniens varie selon les ARS et ont souligné que l'ARS Nouvelle Aquitaine consacrait une politique de prévention et de promotion de la santé environnementale en direction de la petite enfance. Levier d'actions, le PNSE prévoit la poursuite de la surveillance des molécules émergentes prioritaires dans le cadre du nouveau plan micropolluant 2016-2021 intégré au PNSE 3.

L'ARS Nouvelle-Aquitaine a défini une priorité d'actions vis-à-vis des risques environnementaux auxquels sont exposés les enfants au travers de sa stratégie de prévention en direction de la petite enfance. La santé de l'enfant d'aujourd'hui conditionne celle de l'adulte de demain. La période des mille premiers jours à partir de la période fœtale est reconnue comme particulièrement critique compte tenu de la fragilité des organes, de la quantité proportionnellement plus importante d'air inhalé et de par le comportement main-bouche. Par ailleurs, nous vivons principalement dans des espaces clos et sommes exposés aux polluants de l'air intérieur, dont les risques souvent méconnus ou mésestimés. Ainsi, la stratégie régionale de l'ARS a pour objectif de réduire l'exposition aux produits chimiques présents dans les intérieurs des femmes enceintes et des jeunes enfants et englobe, de fait, les perturbateurs endocriniens. Plusieurs actions sont menées dans ce cadre : la sensibilisation des maternités, des personnels des PMI, l'élaboration d'un guide de recommandation dans les crèches, la formation continue des sages-femmes et puéricultrices. L'objectif est de contribuer à la réduction des maladies chroniques, métaboliques, cancers, maladies de la reproduction.

Le Plan régional santé environnement Nouvelle-Aquitaine porté par le président de la Région, le préfet de région et le directeur général de l'ARS prévoit l'amélioration de la connaissance et la réduction de l'exposition aux pesticides, une action de recherche sur les perturbateurs endocriniens, l'amélioration de la qualité de l'eau potable et une action de recherche appliquée sur la qualité de la ressource, ainsi que des actions visant la protection

des femmes enceintes et des jeunes enfants aux substances chimiques dans leur environnement intérieur.

Le Projet Régional de Santé actuellement en phase de consultation et son cadre d'orientation stratégique qui fixe à dix ans la politique régionale de santé prévoit un indicateur lié à la part des femmes enceintes sensibilisées aux risques liés à l'exposition aux substances chimiques dans leur environnement intérieur.

Concernant l'eau potable, l'ARS, conformément au Code de la santé publique, organise le contrôle sanitaire des eaux potables et s'assure de leur conformité aux exigences sanitaires depuis la ressource jusqu'au robinet et de leur absence de risque pour le consommateur. Ce contrôle s'ajoute à l'exigence permanente de qualité qui incombe au producteur/distributeur de l'eau. En sus, des campagnes exploratoires d'analyse de certaines substances non réglementées sont régulièrement conduites par la Direction Générale de la santé ; elles ont montré que l'apport par les eaux contribue de manière peu significative à l'exposition au bisphénol A. Ces campagnes placent la France en bonne position par rapport aux pays européens dans la démarche de proactivité vis-à-vis des substances émergentes.

Un projet de directive européenne visant la refonte de celle actuellement appliquée a été publié au 1^{er} février 2018. Concernant les perturbateurs endocriniens, l'OMS suggère d'utiliser les valeurs de référence fondées sur la précaution proches des normes de qualité environnementale existante pour la protection des organismes aquatiques. Elle propose trois perturbateurs endocriniens : le bêta-œstradiol, le bisphénol A, le nonylphénol.

L'ARS n'est pas légitime, puisque les décisions en matière de norme relèvent du niveau européen et national, ni fondée, compte tenu de l'état des connaissances, pour discuter des normes eau potable. Le contrôle sanitaire qu'elle réalise est assis sur des bases scientifiques et techniques solides et la recherche permanente à laquelle elle s'associe pour s'aligner sur l'état des connaissances les plus récentes ne doit pas conduire à le décrédibiliser au risque de générer une réaction de rejet de l'eau potable des citoyens et de les amener à utiliser des sources présentant des risques connus et avérés (sources et puits privés, eau de pluie, ...) sachant que le risque infectieux reste majeur en matière d'eau d'alimentation.

Ainsi, dans l'état actuel des connaissances, l'action de l'ARS vise à garantir à tous une eau du robinet de qualité au travers des actions réglementaires mais également des projets de santé publique pilotés dans le cadre du PRSE NA que ce soit pour la promotion des Plans de Gestion de Sécurité Sanitaire des Eaux (PGSSE), démarche novatrice d'optimisation de la sécurité sanitaire des eaux, ou pour le soutien à la recherche. Notre recommandation principale demeure de consommer l'eau du robinet car elle permet de lutter contre les ISS (inégalités sociales de santé) par rapport à un déterminant environnemental primordial (l'eau) et en corollaire d'éviter que les populations se détournent de l'eau du robinet pour aller vers des sources d'approvisionnement dont les risques sont certains. Les travaux interministériels et la SNPE² donneront dès septembre 2017 les nouvelles orientations et bonnes pratiques en matière de recherche, réglementation, information et formation des professionnels et usagers.

L'ARS a pris la mesure du problème des perturbateurs endocriniens qui dépasse les frontières de la France. L'exposition aux perturbateurs endocriniens doit être considérée dans son ensemble au travers de l'exposome. En attendant des connaissances plus établies qui se traduiront soit par des interdictions soit par des prescriptions, l'ARS en appelle au bon sens et aux bons gestes pour réduire l'exposition à certaines substances toxiques et chimiques. Pour ce faire, il convient de promouvoir une consommation responsable telle qu'une alimentation équilibrée et l'usage averti de produits domestiques avec une attention particulière sur les mille premiers jours depuis la conception.

Sophie AUCONIE, co-présidente du Cercle français de l'eau et gouverneure au Conseil mondial de l'eau (en vidéo)



Précise que le Conseil mondial de l'eau est adossé à l'ONU et représente l'ensemble des acteurs du monde de l'eau, de l'ensemble de la planète. Il travaille autour de trois axes : l'accès à l'eau et à l'assainissement pour tous, l'eau comme un outil de pacification, la préservation de l'eau tant en termes de consommation que de pollution.

Rappelle que les assises de l'eau lancée par le chef de l'État se tiendront au cours du printemps et permettront d'aborder l'ensemble des problématiques relatives à l'eau par le biais de colloques, de tables rondes suscitant l'échange entre experts et permettant de capitaliser les connaissances. Ces assises ont été décidées dans un contexte où la France est régulièrement sanctionnée par l'Europe, car elle ne tient pas ses objectifs sur l'eau, dans un contexte où le parlement multiplie les propositions de loi sur l'eau, l'assainissement et l'usage de l'eau.

Ne peut que soutenir les initiatives qui permettent de faire avancer la problématique de la pollution de l'eau. De ce point de vue, les perturbateurs endocriniens sont un sujet majeur qui exige de la part des élus, des chercheurs, des citoyens et des usagers une réflexion et une prise de conscience.

Souligne qu'en déposant les déchets plastiques dans la nature ou dans la mer, en consommant des médicaments, l'ensemble de la population est responsable de la pollution des eaux par les perturbateurs endocriniens alors que les stations d'épuration ne savent pas les traiter. Ceux-ci, avec le méthyle de carbone, restent les seuls problèmes de pollution des eaux usées, les autres ayant pu être réglés.

Préconise des mesures incitatives plutôt que coercitives pour améliorer les conditions de recherche. Des progrès colossaux sur le maillage territorial de l'assainissement des eaux usées en France ont été menés grâce à la directive-cadre de l'eau. Il reste à parfaire les stations d'épuration. Il est essentiel d'informer les citoyens sur la façon de limiter le rejet d'eaux usées polluées à travers l'usage des détergents et des produits cosmétiques et de trouver des solutions permettant de traiter les eaux des stations d'épuration polluées par les produits médicamenteux.

Conclut en rappelant que s'il y aura une vie après le pétrole, il n'y en aura pas après l'eau.

André CIOLELLA, Président du Réseau Environnement Santé

Confirme que les perturbateurs endocriniens font partie des thèmes les plus portés par Réseau Environnement Santé qui a été fer-de-lance dans la reconnaissance du bisphénol comme perturbateur endocrinien. Le rapport de l'OMS publié en 2012 reconnaît les perturbateurs endocriniens comme « une menace mondiale à laquelle il faut apporter une solution » et précise que « les effets observés dans la faune sauvage peuvent également survenir chez les humains exposés aux perturbateurs endocriniens dont les concentrations entraînent des altérations de la régulation endocrinienne. » Cette mention suggère que santé humaine et santé de l'écosystème sont intimement liées, l'eau assurant ce lien.

La déclaration de Wingspread du 26 juillet 1991 élaborée par 21 chercheurs souligne, dès son préambule, que « les conséquences des dérèglements apportés par les perturbateurs endocriniens peuvent être graves en raison du rôle de premier plan que les hormones jouent dans le fonctionnement de l'organisme », en ciblant particulièrement, à cette époque, les perturbateurs des hormones stéroïdiennes. En 2009, la déclaration de l'Endocrine Society, remet en cause le paradigme de Paracelse selon lequel la dose fait le poison et définit un nouveau paradigme pour les PE en cinq points : la période fait le poison, les effets de faible dose peuvent être plus délétères que ceux observés à forte dose, l'effet cocktail, la latence entre l'exposition et l'effet, l'effet transgénérationnel. La première conférence de consensus sur le bisphénol A en 2006 a mis en avant que cette molécule était liée au cancer du sein, de la prostate, au diabète de type 2, à l'obésité, à l'atteinte de la reproduction et aux problèmes neurocomportementaux. De nouveaux effets ont été mis en évidence depuis (asthme, allergies, altération de l'émail des dents).

À la suite des colloques organisés par le RES à l'Assemblée et au musée d'histoire naturelle sur les perturbateurs endocriniens, la première décision politique a été prise, à l'initiative des sénateurs radicaux, par le Sénat qui a interdit le bisphénol A dans les biberons. Ce vote a été suivi par celui des députés et étendu à l'ensemble de l'Union européenne dans les six mois qui ont suivi. Cette molécule sera ensuite interdite unanimement dans les contenants alimentaires sous l'impulsion de Gérard BAPT, député socialiste. Les perturbateurs endocriniens ont fait partie d'un axe majeur du troisième plan national santé environnement. L'objectif n'étant pas d'aboutir à des lois pour chaque perturbateur endocrinien, une stratégie nationale des perturbateurs endocriniens négociée en 2013, validée en avril 2014, reconnaît le changement de paradigme des perturbateurs endocriniens et donne comme objectif principal la réduction de l'exposition de la population.

Les perturbateurs endocriniens se sont invités dans les débats de la présidentielle, faisant consensus parmi les candidats. Les inspections générales (Santé, Développement durable et Agriculture), dans leur récent rapport, soulignent que la stratégie nationale était

une stratégie pertinente et opportune, qui a permis de faire émerger la question des perturbateurs endocriniens et a donné des résultats positifs qui restent à amplifier. La mission propose de développer la recherche, renforcer la surveillance, surveiller les différents milieux et les produits alimentaires, caractériser les dangers, prendre les initiatives pour faire évoluer la réglementation, former, sensibiliser et informer. Ce rapport préconise de réviser les normes sanitaires élaborées sur la base du paradigme classique de la toxicologie afin de prendre en compte les spécificités d'action des perturbateurs endocriniens.

Le schéma élaboré par l'ANSES montre qu'une grande partie de ces substances se retrouve dans l'eau et une étude menée sous les auspices de la Commission européenne a constaté la propreté de seulement 10 % des échantillons des eaux contrôlées. La contamination de la ressource en eau de surface et des nappes phréatiques est donc globale ce qui interroge sur les conséquences sur la santé humaine et sur la santé de l'écosystème. Deux exemples familiers aux Français car figurant sur leur facture d'eau, illustrent cette nécessité de repenser les normes :

- Selon une publication récente de la revue *Environmental Health Perspectives*, la norme nitrate telle qu'elle est fixée dans les contrôles sanitaires classiques liés à l'eau potable doit être repensée par rapport à son effet perturbateur sur les hormones thyroïdiennes en lien avec la co-exposition à deux autres substances perchlorate et thiocyanate ayant le même mode d'action ;
- la norme pour les pesticides, qui repose sur le seuil de détection analytique des années 70 n'est plus pertinente, car de nombreuses études montrent un effet cocktail entre pesticides et plus largement entre perturbateurs endocriniens.

L'étude menée par le Joint Research Center, centre de recherche de l'Union Européenne, qui réunit 16 laboratoires européens sur la base de 35 tests sur des mélanges de 14 et 19 substances dont les pesticides, des plastifiants, des cosmétiques, met en évidence que à la concentration correspondant à la réglementation actuelle, des effets cocktails peuvent être observés. L'étude conclut qu'il est urgent de réviser les outils et les paradigmes utilisés pour évaluer la sécurité des produits chimiques dans l'environnement et recommande un recours accru aux bio essais dans le cadre de la surveillance de la qualité de l'eau. Les connaissances scientifiques arrivent à une phase charnière. Le récent concept d'exposome (évaluation des expositions de la conception jusqu'à la mort) a été intégré dans la loi de santé comme la notion sur laquelle repose la politique de prévention. Il est nécessaire en conséquence que la politique de santé publique se centre en priorité sur la période des 1 000 premiers jours (grossesse et petite enfance) alors qu'elle est actuellement basée sur la protection de l'adulte en bonne santé.

Ce colloque vise à interroger la question de la contamination de l'eau, mais aussi de l'alimentation et notamment des emballages alimentaires (cf. étude de l'ANSES qui montre une contamination totale par les phtalates des petits pots destinés aux bébés).

Remercie les participants qui ont accepté de venir éclairer ce sujet ce qui va contribuer à la réflexion du groupe de travail chargé d'élaborer la 2^{ème} phase de la stratégie nationale perturbateurs endocriniens.

SESSION 1

L'Exposition globale aux perturbateurs endocriniens

Les perturbateurs endocriniens – une problématique socio-politico-scientifique

Wilfried SANCHEZ

Directeur Général de la Fondation Rovaltain



S'attachera à évoquer les enjeux et les défis qui s'adressent à la société en lien avec la recherche sur le sujet brûlant que constituent les perturbateurs endocriniens, avec, en premier lieu, l'enjeu temporel.

Les premiers travaux remontent en réalité aux années 50, conduits aux États-Unis par Joy Hertz qui a étudié les impacts des hormones utilisées dans les élevages sur la santé humaine. Ils ont été suivis des travaux de Rachel Carson sur les effets des pesticides notamment du DDT sur les oiseaux sauvages. La problématique détectée dans les années 60 a donné lieu un positionnement de la recherche en 1991 et à une définition des perturbateurs endocriniens à la conférence de

Wingspread qui a fait consensus en 1999 au sein de l'OMS. Il faudra attendre 2017 pour qu'elle trouve sa traduction réglementaire au niveau européen, par le biais de deux règlements sectoriels, pesticide et biocide qui, étonnamment, ne sont pas strictement identiques. Le temps de la recherche et de sa traduction réglementaire est long dans le domaine de la santé environnementale. Le cas du glyphosate est emblématique : mis sur le marché en 1974, il sera peut-être interdit dans trois ou cinq ans ou pas. Dans ces conditions, l'enjeu de raccourcir ce temps de transfert de la recherche scientifique aux textes réglementaires qui régissent la société apparaît comme crucial et doit être saisi par l'ensemble des acteurs scientifiques, publics et politiques.

Les perturbateurs endocriniens sont venus bousculer les concepts dès leur création : il ne fallait plus parler de substances chimiques et de familles d'usage, mais de mécanismes d'action multiples rassemblant de nombreux usages et de nombreuses molécules. La recherche a, dans ce contexte, mis en avant des concepts nouveaux dont celui de la faible dose, de réponses non monotones, d'exposome. Ils nécessitent une approche différente de l'évaluation de la contamination en utilisant les mécanismes d'action des molécules.

S'attarde sur une étude menée en 2014 sous l'égide du Centre de recherche commune de l'Union européenne visant à mieux évaluer la qualité des eaux de surface dans le cadre de la directive-cadre sur l'Eau promulguée en 2002 avec un objectif fixé à 2015. Elle rassemblait 16 laboratoires mettant en œuvre 35 essais sur des mélanges complexes de 14 et 19 substances surveillées par ladite directive. S'appuyant sur des tests innovants, sur les cellules et les organismes, elle a montré la pertinence d'utiliser une approche basée sur la mesure et l'évaluation des mécanismes d'action, de sortir de l'approche substance par substance basée sur une comparaison entre une valeur mesurée et une valeur réglementaire. Ce défi est de taille et, même si les outils existent, ils ne sont toujours pas intégrés dans la réglementation. Ceux visant l'analyse sur les perturbateurs œstrogéniques pourraient l'être dans le cadre de la prochaine directive-cadre sur l'eau. Le socle de connaissances est désormais suffisamment solide, les outils suffisamment robustes pour construire une réglementation s'appuyant sur les connaissances scientifiques actuelles sans attendre les avancées futures. Les acteurs de la recherche se devront d'accompagner les acteurs et réglementaires politiques dans la construction de ces projets de loi.

Confirme que les perturbateurs endocriniens sont spécifiques de par leur appropriation par la population, le milieu politique et la sphère médiatique. Les médias devront être familiarisés à la démarche et à la rigueur scientifiques dans une approche mutuelle entre chercheurs et médias. Plutôt qu'une communication de la peur, il faut privilégier une communication de la connaissance scientifique. L'échange autour des perturbateurs endocriniens nécessite une mobilisation large, englobants scientifiques, politiques, industriels et citoyens. Un autre enjeu est celui de leur substitution : par quoi remplacer les perturbateurs endocriniens ? Comment s'assurer de l'innocuité de leur substituant ?

En conclusion, Wilfried SANCHEZ rappelle que la recherche dispose désormais d'un corpus de connaissance solide qui permet de passer à la solution réglementaire, que les perturbateurs endocriniens sont quelques substances parmi les 100 000 présentes sur le marché communautaire. Il est crucial de ne pas négliger la notion d'exposome au risque de passer à côté de la problématique.

La notion d'Exposome

Virginie MIGEOT

Cheffe du service santé publique du CHU de Poitiers responsable HEDEX INSERM Université de Poitiers



Revient sur la découverte de la double hélice de l'ADN Watson et Klug qui a marqué un tournant majeur et engendré plusieurs milliers de publications scientifiques pour essayer de comprendre l'importance des maladies chroniques. Celles-ci deviennent l'une des principales causes de mortalité dans le monde prenant progressivement le pas sur les maladies transmissibles et les causes externes. En 2016, elles représentaient 60 % des causes de décès dans le monde. En dépit des multiples études, peu réussissent à mettre en lien des profils particuliers avec ces maladies. En effet, d'autres facteurs s'y ajoutent dont celui de l'environnement et les habitudes de vie qui contribuent de façon significative à la survenue des quatre maladies chroniques que sont le cancer du côlon, les accidents

vasculaires, les maladies coronariennes et le diabète par des mécanismes complexes et notamment l'épigénétique qui modifie la lecture des gènes. L'exposome, concept lancé par M. Wild en 2005 englobe l'exposition externe (climat, facteurs socio-économiques, stress, environnement de vie, habitudes de vie), les conséquences de cette exposition dans l'organisme et les modifications consécutives sur l'expression génétique, la signalisation hormonale et les conséquences sur le microbiote. Certains chercheurs ont évoqué la notion de métaexposome qui élargit le concept d'exposome à l'ensemble des systèmes vivants en mettant en avant les effets néfastes mais aussi la possibilité de résilience. Tout comme le génome, le concept d'exposome fait aujourd'hui l'objet de publications scientifiques et il est à souhaiter que l'amendement de M. Bapt et l'action de M. Cicoella visant à l'inscrire dans la loi permettent de s'en emparer davantage.

L'exposome vient compléter la vision écotoxicologique et bousculer la vision jusqu'à présent compartimentée. Pour mesurer toutes les sources d'exposition d'hier, d'aujourd'hui et de demain, il faudra compiler un certain nombre de données issues de différentes sources d'information. Cela passera par le sondage des personnes pour connaître leurs habitudes de vie, par la collecte d'informations écologiques par le biais des différentes antennes et agences surveillant la qualité de l'environnement afin d'identifier les zones particulièrement exposées et les produits polluants, par la collecte des étiquettes des produits ménagers et cosmétiques présents dans les habitations, par l'évaluation de l'imprégnation corporelle par ces perturbateurs endocriniens, par la fourniture de capteurs dont pourraient être équipées des personnes pour mieux déterminer la qualité de l'air inhalé. Il conviendra ensuite de traiter ces différentes informations collectées, de les compiler, de les répartir par profil et de les mettre en lien avec différentes pathologies. Il faudra, analyser très tôt dès les premiers jours de vie ces expositions et les suivre dans le temps ce qui permettra de mieux comprendre aussi les mécanismes de l'effet cocktail.

L'exposome, s'il est un atout majeur, reste un défi qui peut être relevé selon deux stratégies, l'une visant à évaluer toutes les sources d'expositions environnementales (démarche bottom-up), l'autre à rechercher dans les matrices biologiques tous les polluants possibles (démarche top-down) et de croiser ces informations. D'autres proposent de réduire l'évaluation de l'exposome à certaines fenêtres de la vie : la phase intra-utérine, la naissance, les premières années, la puberté, la fin de l'âge de reproduction. Il conviendra de choisir les matrices pertinentes entre le lait maternel, l'urine, le sang et les tissus adipeux. Les méthodes analytiques doivent être robustes, fiables et non ciblées, l'identification des mélanges de contaminants pertinents pour pouvoir mieux comprendre les mécanismes d'action. Ces enjeux supposent une démarche interdisciplinaire afin que l'exposome puisse apporter cette indispensable vision multidimensionnelle. Plusieurs programmes internationaux travaillent sur l'exposome et ont reçu des financements européens : Helix compilant les données issues de plusieurs cohortes mères-enfants européennes en évaluant l'impact sur la croissance et le développement de l'enfant ; Heals étudie l'impact et mobilise toutes les techniques omiques ; Exposomics examine les différents effets de l'exposition aux polluants air et eau.

L'exposome entraîne un changement de paradigme et une volonté de travailler ensemble.

Le concept de la DOHAD (Origine Développementale de la santé et des maladies)

Latifa NAJAR

Directrice scientifique IDELE et membre fondateur de la Société Française DOHAD



Propose d'examiner la mise en œuvre du concept de DOHAD et son évolution. Les maladies chroniques sont devenues la première cause des décès dans le monde et devraient atteindre 77 % dans la prochaine décennie en dépit des progrès médicaux et de l'augmentation de l'espérance de vie. Parmi ces maladies, deux cancers du sein sur trois se retrouvent dans les pays économiquement développés. L'obésité est devenue une pandémie et a augmenté de façon préoccupante concernant au premier chef les enfants avec 41 millions d'enfants de moins de cinq ans obèses ou en surpoids. S'ajoute à ce constat l'apparition de nouvelles maladies : maladies auto-immunes, asthme et maladies respiratoires, autisme. Il est urgent d'agir pour éviter l'explosion générale des

maladies à l'âge adulte et, dans ce contexte, crucial de convaincre les autorités sur l'importance de la période des 1 000 premiers jours de la vie comme étant une source de pathologies.

Nombre de scientifiques constatent l'inefficacité des traitements médicamenteux dans le champ des maladies chroniques, sachant que celles-ci sont causées, pour une part infime, par la génétique ce qui rend les discours culpabilisants vains. Est observé un développement du cancer du sein inégal entre les pays, cette maladie étant particulièrement répandue en Europe de l'ouest et Amérique du Nord. Ces différents éléments supposent un changement de la façon d'aborder la santé et l'intégration de la notion des mille premiers jours de la vie pour pouvoir lutter contre ces maladies métaboliques. Le DOHAD se situe dans ce cadre.

David Barker, épidémiologiste britannique, est à l'origine de ce nouveau concept après qu'il ait mené des études épidémiologiques basées sur des données relatives à des populations mortes de maladies chroniques. Il a émis l'hypothèse que l'environnement au cours de la gestation induit des effets indésirables sur la santé à l'âge adulte, perturbation se traduisant par une transmission transgénérationnelle. Il a notamment relevé que les bébés dont les mères avaient vécu la période de famine qui a marqué la fin de la Seconde Guerre mondiale étaient beaucoup plus exposés, une fois adultes, à des maladies cardiovasculaires et des maladies métaboliques que les autres. Ces constats soulignent l'importance des périodes de la gestation, mais leurs effets diffèrent ce qui exige une appréciation au cas par cas. Ils étaient beaucoup plus touchés par le diabète si leur mère avait vécu la famine en fin de gestation. S'appuyant sur le marqueur du poids de naissance, David Barker a observé que les personnes développant des maladies cardiovasculaires ou métaboliques étaient principalement des hommes nés avec un petit poids. Il a confirmé ces études sur le diabète de type 2.

Évoque la notion de réponses adaptatives prédictives (RAP) défendue par des chercheurs comme Gluckman, qui stipule qu'un phénomène d'adaptation subi durant la vie fœtale va complètement changer la trajectoire de la santé de la personne à l'âge adulte. Les facteurs de stress (hormones, glucocorticoïdes) sont des facteurs majeurs et vont moduler la fonction d'un certain nombre de tissus, d'organes et de gènes. Si à un environnement prénatal défaillant, s'ajoute un environnement postnatal tout aussi défaillant, une explosion des pathologies est à prévoir. Ce phénotype économe a été démontré par plusieurs études expérimentales. L'importance de l'exposition durant la vie prénatale et postnatale s'applique aussi aux perturbateurs endocriniens. Des expériences avec une exposition à des perturbateurs endocriniens durant la période de gestation et plus tard à des régimes alimentaires délétères ont montré une exacerbation des problèmes de poids et de diabète. La première période de vie dite période des mille premiers jours (gestation et deux premières années) est fondamentale pour limiter ces pathologies. S'y sont ajoutées les périodes de périconception et de l'adolescence.

La notion d'environnement est très complexe, englobe l'alimentation, le comportement, la pollution de l'air, de l'eau, de l'alimentation. L'exposome permettra d'avoir une idée globale sur l'impact des facteurs environnementaux dans leur ensemble. L'environnement peut entraîner une modulation de l'expression des gènes via les régulations épigénétiques et une perturbation de l'ensemble des organes. Ces modifications de structure, de fonction, d'expression de gènes sont à l'origine d'une explosion des maladies chroniques. Ces modifications chimiques du génome sont sans doute réversibles si les personnes prennent des précautions et évitent les expositions de façon drastique durant les périodes charnières précitées. Des études expérimentales ont montré l'existence de marques épigénétiques qui se retrouvent sur le génome. Elles varient en fonction de l'exposition subie durant les périodes pré- ou postnatales. La nutrition joue un rôle non négligeable : la consommation de brocolis diminue, 24 heures après, l'expression de la transcription d'un certain nombre de gènes. L'empathie maternelle, l'exercice physique, les perturbateurs endocriniens jouent également un rôle sur les régulations épigénétiques.

Il est aujourd'hui essentiel de ne plus raisonner en termes de doses toxicologiques, mais en termes de périodes d'exposition, d'effets à long terme, d'effet cocktail, de relation dose/effet, d'effets transgénérationnels qui, à ce stade, n'ont été prouvés que par le modèle animal sans négliger le rôle du père dans la programmation métabolique. Des effets développementaux ont été prouvés sur les populations et se traduisent par des avortements, des mortalités à la naissance et des faibles poids à la naissance qui est un marqueur des pathologies tardives. Ne pouvant travailler sur des intervalles de 50 ans, le DOHAD s'appuie sur des études rétrospectives, notamment l'une menée sur la population d'Antofagasta au Chili. En dépit d'un revenu par habitant des plus élevés du pays, cette population présente une faible espérance de vie compte tenu de la présence d'arsenic dans l'eau. Les personnes dont la mère n'avait pas été exposée à cette contamination durant la période fœtale ont aussi été contaminées. Le rôle du père est à prendre en compte, car il a été prouvé que l'exercice de certaines professions (peintre, mécanicien, industrie textile) était lié au développement de certaines pathologies de type tumorales chez les enfants voire à la mortalité à la naissance.

En conclusion, le concept du DOHAD montre l'importance des périodes précoces de la vie et doit être étendu à la période de l'adolescence et de la périconception, remet en cause la notion de toxicologie au profit de celle de faible dose et d'effet transgénérationnel, veut réviser les outils mis à disposition pour la toxicologie pour progresser dans l'évaluation des risques liés aux perturbateurs endocriniens et trouver les indicateurs biologiques précoces permettant de prévenir plus tôt les risques d'expositions.

Le mécanisme de l'effet cocktail

Nicolas CREUSOT

Post-doctorant en chimie environnementale EAWAG



Indique que les perturbateurs endocriniens sont le fait d'une diversité de sources et de classes chimiques qui affectent l'homme et les milieux aquatiques, de multiples mécanismes d'action et des effets individuels et/ou populationnels. Dans ce contexte, il convient de s'interroger sur l'évaluation du risque environnemental associé à ces contaminants et sur leur surveillance dans l'environnement. La présentation se focalise sur les mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens et du décryptage des effets cocktail associés.

Le système endocrinien repose sur différentes glandes qui synthétisent et sécrètent les hormones (e.g. thyroïdiennes et stéroïdiennes). Celles-ci sont transportées par la circulation sanguine dans les tissus pour accomplir leur action et/ou être métabolisées. Les perturbateurs endocriniens agissent à différents niveaux de cette cascade. Ce faisant, ils altèrent les grandes fonctions qui sont régulées par ces hormones (la reproduction, le développement, l'immunité, l'homéostasie...). Notamment, la synthèse des hormones stéroïdiennes peut être altérée par un certain nombre de perturbateurs endocriniens. Par exemple, le DDT est un pesticide qui peut altérer la biosynthèse des minéralocorticoïdes et des immunocorticoïdes. L'un des cas le plus décrit concerne l'inhibition de l'enzyme aromatasé responsable de la conversion des androgènes en œstrogènes par des composés tels que les imidazoles et les triazoles (e.g. clotrimazole, propiconazole, prochloraz) qui sont des composés anti-fongiques utilisés comme pesticides en agriculture et dans le traitement des mycoses chez l'Homme. Aussi dans le cas d'un mélange complexe, on peut concevoir que cette biosynthèse des hormones puisse être perturbée à différents niveaux, complexifiant la réponse finale. Un autre cas emblématique et le plus fréquemment cité concerne la modulation par les perturbateurs endocriniens des récepteurs nucléaires qui sont des facteurs de transcription régulant l'expression de gènes impliqués dans les grandes fonctions de l'organisme. Le perturbateur endocrinien pourra interagir avec ce récepteur, de la même manière qu'une hormone endogène et sera en ce cas considéré comme un agoniste. Les antagonistes interagissent également avec le récepteur nucléaire, mais bloquent son action, empêchant l'action de l'hormone endogène. L'additivité correspond à la simple addition de l'effet des composés actifs d'un mélange. Enfin, est appelé synergisme la combinaison des deux perturbateurs endocriniens qui n'aboutissent pas à un phénomène d'additivité, mais à une activité décuplée par rapport à celle prédite par rapport aux modèles additifs.

Présente différents exemples de perturbateurs endocriniens et de leur récepteur cible sachant que certains en ont plusieurs et que ces récepteurs cibles interagissent entre eux (i.e. Cross-talk) : bisphénols (récepteurs ER, EER, AR, PXR), phtalates (ER, ERR, AR PXR), pesticides (PXR, ER, AR), dérivés des bisphénols (PPARy), composés perfluorés (PPARs, ER, AR), alkylphénols (ER, ERR, AR, PXR), benzophénones (ER, AR), hydrocarbures aromatiques et dioxine (AhR).

Évoque le cas du cross-talk qui consiste à l'interaction entre la voie de signalisation du récepteur des œstrogènes (ER) et celle de la dioxine (AhR). Par exemple, les activateurs du AhR de type HAP ou PCB sont capables de moduler la synthèse et le métabolisme des

hormones endogènes et ainsi d'altérer la signalisation du récepteur des œstrogènes. D'autres types d'interaction entre ces voies de signalisation sont également décrites dans la littérature. Dans l'ensemble, ceci pose la question du type de réponse en présence de mélange environnementaux contenant des activateurs du AhR et des activateurs du ER.

Présente les différentes méthodes pour caractériser les mécanismes d'action. Parmi les méthodes *in silico* ou cristallographiques, les QSAR sont basées sur la corrélation entre la structure d'une molécule et son effet biologique. Par exemple, la présence de groupements phénols au sein de composés chimiques laisse fortement suspecter une activité œstrogénique. Des modèles mathématiques permettant de prédire une activité potentielle d'un composé par rapport aux groupements chimiques présents au sein de cette molécule peuvent être ainsi construits. De manière complémentaire, la cristallisation au rayon X du complexe ligand récepteur vise à comprendre comment le perturbateur endocrinien interagit avec le récepteur nucléaire et plus précisément avec la poche de fixation du ligand. Cette approche a permis de mettre en évidence que le récepteur des œstrogènes possédait au minimum cinq modes de liaison avec différents ligands. De même, il est généralement admis que le mode de liaison d'un même PE diffère entre ses différents récepteurs cibles. Plus récemment, une étude publiée en 2015 par les équipes de Patrick Balaguer et de William Bourguet a également mis en évidence la capacité de deux contaminants environnementaux (le trans-nonachlor et l'éthinyl-oestradiol) à interagir au même moment dans la poche de liaison. C'est ce mécanisme qui est responsable de l'activation synergique du PXR. On parle en ce cas de ligand supramoléculaire. À partir de la cristallisation du complexe entre un ligand et un récepteur, il est aussi possible de développer des modèles d'homologies pour d'autres récepteurs ou encore pour des récepteurs nucléaires d'autres espèces à travers la comparaison des séquences en acides-aminés.

Les méthodes *in vitro* biochimique sont principalement basées sur la mesure de l'affinité d'un ligand pour un récepteur à travers la détermination de la constante de dissociation (K_d) qui traduit la force de la liaison. Cette mesure permet ainsi d'inter-comparer les ligands selon leur affinité pour le récepteur. Par le passé, elle était réalisée avec des ligands radioactifs ; l'augmentation de la concentration des perturbateurs endocriniens entraînait une diminution de la radioactivité qui témoignait de la mise en compétition de ces perturbateurs endocriniens avec l'œstradiol radioactif (i.e. dans le cas du récepteur ER) qui permettait de calculer l'affinité des différents ligands pour le récepteur et de pondérer l'affinité de ces composés les uns par rapport aux autres. On trouve aujourd'hui le même type d'approche avec des ligands fluorescents. La calorimétrie isothermale permet également de mesurer l'affinité du ligand par rapport au récepteur mais elle est globalement moins utilisée.

Aborde les méthodes *in vitro*-cellulaires. De manière générale, la fixation du récepteur nucléaire à l'ADN régule l'expression de certains gènes qui vont conduire à une production de protéines. Il est ainsi possible de mesurer cette expression de gènes et de protéines *in vitro*. Par exemple, dans le cas du PXR, son activation conduit à une augmentation de l'expression du CYP3A4, enzyme impliquée dans le métabolisme des xénobiotiques. Il a ainsi été montré que l'exposition à un mélange d'éthinylestradiol et de transnonachlor conduisait à l'induction synergique de l'expression du CYP3A4 dans des lignées cellulaires humaines, en lien avec l'activation du PXR. Au-delà de l'expression des gènes, il est possible de mesurer *in vitro* des activités enzymatiques telle que celle du CYP1A1, impliquée dans l'élimination de composés néfastes pour l'organisme et dans le métabolisme des hormones endogènes et qui est induite par des ligands du AhR. On peut aussi citer l'activité de l'aromatase qui est responsable de la conversion des androgènes en œstrogènes et qui est induite par des ligands du récepteur des œstrogènes ou encore les enzymes CYP3A4 et CYP2B6 induites par des ligands du PXR, elles-mêmes impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques et des hormones endogènes.

Une autre manière de caractériser les PE est la capacité de certains récepteurs à être impliqués dans la prolifération cellulaire. Par exemple, la méthode E-screen est basée sur l'utilisation de cellules du cancer du sein dont la prolifération est dépendante du récepteur

d'oestrogènes. L'exposition de ces cellules à des (xéno)estrogènes provoque leur prolifération qui est immédiatement décelable. Ainsi le bisphénol A et certains de ses produits de substitution conduisent à une augmentation du nombre de cellules.

Aborde l'utilisation de lignées cellulaires bioluminescentes. Il s'agit de cellules cancéreuses transgéniques qui sont transfectées avec un gène rapporteur, la luciférase. Dans ce cas, l'exposition des cellules à des perturbateurs endocriniens entraîne l'expression d'un gène codant la luciférase qui permet l'émission de lumière directement mesurable. Il existe actuellement des lignées bioluminescentes basées sur une multitude de récepteurs nucléaires humains, de souris ou encore de poissons zèbre. Ces cellules sont cultivées de manière routinière en conditions stériles au laboratoire. Elles sont exposées avec des gammes croissantes de perturbateurs endocriniens potentiels. La réponse se traduit par une courbe dose réponse proportionnelle en termes de lumière à la quantité de perturbateurs endocriniens. À partir des courbes, est établie une EC50 (i.e. concentration effective) qui est une mesure de la capacité du composé à activer le récepteur ce qui permet de comparer les composés les uns par rapport aux autres. Ces méthodes *in vitro* pour le criblage des perturbateurs endocriniens sont aujourd'hui automatisables et certains instituts (INSERM Montpellier, P. Balaguer et INERIS, Selim Aït-Aïssa) sont équipés pour les réaliser à très haut débit.

Concernant les méthodes *in vivo*, il est possible de mesurer l'accumulation d'*oil red* chez le poisson zèbre. L'objectif est de mettre en évidence l'activation du récepteur PPAR impliqué dans le métabolisme lipidique. Une altération de ce récepteur peut conduire à l'accumulation de lipides. Ce récepteur est suspecté d'être impliqué dans les phénomènes d'adipogenèse et d'obésité. Chez le poisson zèbre exposé à une concentration croissante en PFOA, l'accumulation de lipides est plus marquée. Différents modèles transgéniques ont par ailleurs été développés sur le poisson zèbre ou le xénope et sur la souris permettant le criblage de perturbateurs potentiels et dans certains la localisation précise du site d'action des PE (e.g. modèle AroB-GFP, INERIS, F. Brion). Il existe aussi des systèmes de xénogreffes sur les souris. De manière générale, la réponse *in vivo* est souvent plus faible, car elle tient compte de phénomènes de métabolisme qui ne sont pas pris en compte *in vitro*. Mais les corrélations avec les méthodes *in vitro* sont généralement très bonnes.

En résumé, les méthodes sont multiples : Les méthodes *in silico* représentent une alternative satisfaisante mais la construction des modèles nécessite d'apporter davantage de connaissances sur ces mécanismes. Les méthodes biochimiques sont très utiles pour l'étude des mécanismes d'action, sont adaptées au criblage haut débit mais ne prennent pas en compte le contexte cellulaire. Les méthodes *in vitro* cellulaires sont utiles pour l'étude du mécanisme en action, sont plus intégratives que les méthodes biochimiques, sont très adaptées à un criblage haut débit, mais ne prennent que partiellement en compte la *toxicocinétique* du ou des composés en comparaison des méthodes *in vivo* qui prennent en compte l'intégralité de l'individu. Celles-ci ont évolué et deviennent plus simples et plus abordables financièrement. De manière générale, en lien avec la règle des 3R (remplacer, réduire, raffiner), il importe d'aller vers des méthodes alternatives comme les méthodes *in vitro* permettant de réduire le recours aux animaux. Certains de ces tests font actuellement l'objet d'une validation au sein de l'OCDE ou de l'ISO et seront normalisés pour évaluer le caractère perturbateur endocrinien dans le cadre de la directive REACH et dans celui de la directive-cadre sur l'eau.

Rappelle que les objectifs de la directive-cadre sur l'eau étaient d'atteindre un bon état écologique et chimique des nappes d'eau d'ici 2015. Ils ne sont toujours pas atteints en 2018. L'état chimique est basé sur la surveillance de 56 substances prioritaires au sein d'un réseau défini en France et en Europe pour lesquels les normes de qualité environnementale ne doivent pas être dépassées. Bien que certains perturbateurs endocriniens soient inclus dans cette liste, l'état chimique en l'état est peu informatif sur cette famille car les seuils ne sont pas définis sur la base du caractère PE mais de leur toxicité globale (i.e. aigue ou chronique). Cependant, une étude pilotée en 2014 par le JRC (Joint Research Center) a

permis de mettre en évidence le caractère perturbateur endocrinien d'un mélange de certaines de ces 56 substances. Aussi, la révision de la directive cadre sur l'eau en 2013 (i.e. directive fille) a vu l'établissement d'une liste de substances à surveiller (i.e. watch list). Cette liste contient notamment l'œstradiol et l'éthinylestradiol avec des normes de qualité environnementale très basses (respectivement 0,4 nanogramme/litre et 0,04 nanogramme/litre d'eau). Face à de tels seuils, les méthodes de chimie analytiques utilisées classiquement par les laboratoires de routine ne sont pas assez sensibles. Il a, dans ces conditions, été proposé de réaliser la surveillance de ces composés à travers une détection biologique basée sur le mécanisme d'action, donc les modèles cellulaires évoqués qui sont plus sensibles, intégratifs et peu coûteux. Ils permettent de quantifier le mélange de perturbateurs endocriniens par rapport à un composé de référence (e.g. E2-EQ pour l'activité oestrogénique). Concernant ces modèles, une norme ISO est en développement sous le pilotage de la société néerlandaise BDS et la participation d'un grand nombre de laboratoires européens pour les tests en laboratoire.

De manière complémentaire, un consortium européen regroupant 24 partenaires de douze pays, porté par la Science Policy Interface de la Direction générale de l'environnement de l'Union européenne et piloté par l'oekotozentrum centre ecotox (Robert Kase, Suisse) a pour objectif de caractériser le potentiel de diagnostic d'un panel de cinq bio essais *in vitro* pour la détection des composés oestrogéniques dans les eaux de surface, tout en les comparant avec les méthodes chimiques et ainsi proposer des critères d'évaluation pour la surveillance des hormones dans les eaux. Pour ce faire, une trentaine d'échantillons d'eau de surface et d'eau usée ont été investigués. Sur les eaux usées, les analyses chimiques sont à la limite de la détection du seuil fixé tandis que les bioessais *in vitro* permettent une détection plus basse que ce seuil. Ce consortium a aussi permis d'engager des discussions sur la définition de la valeur seuil à partir de la comparaison de la réponse de cinq bio essais *in vitro* et d'un bio-essai *in vivo* basé sur l'utilisation d'embryons de poisson zèbre transgéniques (INERIS, F.Brion). L'objectif est ainsi de définir une valeur d'activité oestrogénique (i.e. E2-EQ) à partir duquel une réponse *in vivo* est observée. On constate que les valeurs seuils ainsi déterminées sont très proches des valeurs déjà proposées dans la littérature et définies dans la directive-cadre sur l'eau en tant que norme de qualité environnementale (0,36 nanogramme/litre pour l'œstradiol). La prochaine étape sera de statuer sur ces valeurs seuils, en vue d'intégrer ces outils *in vitro* dans la surveillance opérationnelle lors la révision de la Directive-cadre sur l'eau prévue en 2019. Ceci constitue la tâche du sous-groupe « effect-based method » du groupe de travail « chemical » de la Direction générale de l'environnement de la Commission européenne. A plus long terme cette surveillance *in vitro* pourrait s'intégrer dans des stratégies pluridisciplinaires plus larges dites *bio-analytiques* visant à identifier les sites plus dangereux pour ensuite mettre en œuvre des bioessais *in vivo* visant à confirmer le danger associé à ces mélanges complexes mais aussi des analyses chimiques visant à identifier les composés responsables des effets (i.e. analyse dirigée par l'effet).

En résumé, la caractérisation des mécanismes d'action et la compréhension des effets de mélange sont un enjeu très important de la perturbation endocrinienne, mais s'avèrent très complexes. Pour y parvenir, de nombreuses méthodes sont aujourd'hui disponibles davantage dédiées à l'évaluation des composés individuels dans un contexte REACH. Il conviendra de les développer, de les valider et de les standardiser à l'échelle de la Directive-cadre eau et d'aller vers des méthodes alternatives *in silico* et *in vitro* pour des considérations éthiques. Concernant l'exposition aux mélanges complexes en lien avec la qualité de l'eau, l'intégration de l'E2 et de l'EE2 dans la liste de surveillance de la DCE auxquelles s'adosent des normes de qualité environnementale extrêmement basse nécessite une détection biologique intégrée de l'ensemble des composés pouvant agir sur des sites perturbateurs endocriniens. Il conviendra de définir des valeurs seuils à partir des approches combinées *in vitro* et *in vivo* dont les travaux sont déjà en cours et enfin, d'intégrer ces outils dans une approche pluridisciplinaire plus complexe et plus intégrée visant à faire le lien entre l'exposition, l'identité, le mécanisme et les effets (e.g. analyse dirigée par l'effet).

Échange avec la salle

Alain PERSU, gynécologue, administrateur de l'agence régionale pour la biodiversité Nouvelle Aquitaine

Souligne l'indigence des propos de la représentante du Conseil mondial de l'eau qui a mis au même niveau d'égalité les citoyens et les industries, qui a affirmé que les problèmes des eaux usées étaient résolus à l'exception des perturbateurs endocriniens. Souhaite évoquer le rôle des milieux naturels (marées, tourbières) dans la protection de la qualité de l'eau et celui de la phytoremédiation (boisements alluviaux, ripisylve) capable de casser la structure moléculaire chimique d'un certain nombre de produits chimiques y compris des métaux lourds. La France accuse un retard conséquent dans la protection des captages d'eaux potables par le boisement qu'elle doit rattraper. Une partie des captages d'eau potable des périmètres de protection doivent être boisés

Serge ROBERT, Modérateur

Assure à son tour la capacité importante d'absorption et de relargage des contaminants dans les sédiments des marais et des zones humides en général, sujet qui n'est que peu pris en compte par la recherche.

Souligne que Madame AUCONIE s'est exprimée dans un cadre institutionnel.

Un intervenant

Revient sur les méthodes alternatives évoquées notamment la méthode *in silico* dont il suppose qu'elle repose sur le numérique. Il met en avant les microperturbations produites par les ondes inhérentes aux nouvelles technologies.

Nicolas CREUSOT

Répond que l'objectif est bien d'aller vers les approches *in silico* pour réduire le recours aux animaux. Ces approches restent à valider.

Convient que les modèles *in silico* ont pour le moment leurs limites.

Virginie MIGEOT, Cheffe du service santé publique du CHU de Poitiers responsable HEDEX INSERM Université de Poitiers

Précise que l'objectif n'est pas d'équiper de capteurs toutes les mères et leur enfant à la sortie de leur maternité. Ces outils pourront en revanche affiner certaines données existantes.

Un intervenant

S'enquiert du délai d'application pratique des techniques de surveillance des perturbateurs endocriniens au quotidien et de l'information du consommateur.

Nicolas CREUSOT, Post-doctorant en chimie environnementale EAWAG

Confirme que l'intégration des méthodes *in vitro* pour la biodétection des perturbateurs endocriniens dans les milieux aquatique et l'évaluation de la qualité des eaux est prévue en 2019, dans le cadre de la révision de la directive cadre sur l'eau.

Serge ROBERT, Modérateur

Souligne les nombreuses dérogations à la DCE au niveau national ce qui la rend inefficace. Celle-ci doit gagner en efficacité pour les différentes masses d'eau.

Yves LEVI, Université Paris Sud

S'étonne à son tour de certains propos de Sophie AUCONIE et notamment sur son affirmation que l'assainissement des eaux usées ne serait plus un problème en France.

Souligne la qualité de l'intervention de Nicolas CREUSOT et précise que les analyses physico-chimiques et les bio-essais sont deux techniques très différentes qui ne peuvent être comparées en termes de limite de sensibilité. Quand le test en biologie est fiable et validé, il doit être déployé sans chercher à modifier la sensibilité car il apporte sa réponse et vouloir pousser à l'extrême ne permet plus d'interpréter le résultat. L'apport de la biologie à l'analyse physico-chimique est indispensable.

Nicolas CREUSOT, Post-doctorant en chimie environnementale EAWAG

Précise que les outils *in vitro* permettent la mesure de la concentration au même titre que les analyses chimiques mais sont aussi informatif sur le mécanisme d'action en complément des outils *in vivo* qui permettent la mesure de la réponse à l'échelle de l'individu.

Selon **Grégory LEMKINE, Directeur du Laboratoire Watchfrog**, le lien entre le seuil de détection possible en termes d'équivalents hormonaux et les observations de toxicologie dans d'autres organismes, dans d'autres contextes environnementaux expérimentés qu'établit la présentation n'est pas certain. Il ne doit pas amener à déduire que la détection *in vitro* de ces seuils serait liée à un effet de toxicité.

Patricia NOWAK, Représentante nationale des associations d'obèses

Demande si, dans la mesure où tout se joue dès les mille premiers jours de la vie, l'ARS Nouvelle Aquitaine pourra autoriser les associations de patients à porter des programmes d'éducation thérapeutique dès la maternité et dès le premier rendez-vous chez le gynécologue.

Marie-Laure GUILLEMOT, Représentante de l'ARS Nouvelle Aquitaine

Répond que l'ARS se doit de prioriser ses actions et a choisi de s'intéresser à la population la plus sensible des fenêtres d'exposition. Les parcours d'éducation thérapeutique sont liés à une pathologie alors que la stratégie petite enfance est une politique de prévention et de promotion et se place en amont des risques pour des gains futurs. Elle vise à faire acquérir aux futures mères et enfants les bons gestes afin de limiter l'exposition aux perturbateurs endocriniens ce qui passe par l'alimentation, l'utilisation de produits d'entretien labellisés.

Marillys MACÉ, Directrice générale du centre d'information sur l'eau

Remercie les organisateurs d'avoir ouvert ce colloque éminemment scientifique au grand public.

Rappelle que le brocoli évoqué comme moyen de remédiation naturelle de la structure ADN alors qu'il est chargé en résidus de pesticides et bloque l'assimilation de l'iode.

Souhaite savoir s'il faut s'inquiéter des perturbateurs endocriniens naturels et si la recherche s'y intéresse.

Joël ROBERT, Responsable du pôle santé publique département de la Vienne pour l'ARS Nouvelle-Aquitaine

Note que l'ensemble des intervenants sont des chercheurs ce qui l'amène à penser que le sujet n'est pas encore suffisamment mature pour être décliné par des actions d'ampleur au grand public. La stratégie de prévention et de promotion de l'ARS Nouvelle-Aquitaine auprès des familles prend acte de l'absence d'un cadre réglementaire précis que l'ARS n'est pas légitime à construire. La femme enceinte n'étant pas une patiente, le parcours d'éducation thérapeutique du patient n'est pas pertinent dans ce champ sauf pour les personnes enceintes atteintes d'obésité. De tels parcours devront répondre à un cahier des charges précis défini au niveau national, les ARS étant garantes de l'utilisation des fonds publics.

Invite les associations intéressées à construire un projet en ce sens et à répondre aux projets proposés chaque année par l'ARS.

Serge ROBERT, modérateur

Confirme que les programmes ETP nécessitent la participation, voire la coordination, des associations de malades agréées pour garantir que les actions s'appliquent bien aux usagers. De ce point de vue, de tels parcours seraient opportuns pour favoriser la promotion en santé environnementale, notamment de la femme enceinte, diabétique et/ou obèse.

André CIOLELLA, Président du Réseau Environnement Santé

S'enquiert de l'évolution de la norme nitrate par rapport aux perturbateurs endocriniens des hormones thyroïdiennes.

Latifa NAJAR, Directrice scientifique IDELE

Pense qu'il serait alarmiste d'affirmer que la période de la périconception serait tout aussi importante que la période de gestation. Les facultés de médecines doivent apprendre aux futurs obstétriciens à bien informer les futurs parents, pratique en cours dans les pays scandinaves.

Convient que la consommation de brocolis chargés en pesticides n'est pas opportune. Il en est de même pour les plantes qui captent les produits toxiques et qui sont ensuite ingérées par les animaux dont nous buvons le lait.

Yves LEVI, Université Paris Sud

En réponse à André CIOLELLA, signale que plusieurs types de perturbations existent : celle des récepteurs, mais aussi celle de la production des hormones thyroïdiennes. À ce titre, les ions perchlorate contaminent de nombreuses ressources en eau, notamment dans le Bordelais et dans le nord de la France et induisent une perturbation de la capture de l'iode dans la thyroïde que les tests *in vitro* sont incapables de mesurer. L'Institut de veille sanitaire mène actuellement une étude épidémiologique dans la région nord très exposée.

Concernant les interactions sur les récepteurs aux hormones thyroïdienne, indique que nombre de mesures réalisées dans son laboratoire dans les eaux en France pendant de nombreuses années ont reflété des valeurs extrêmement faibles ou non mesurables dans certaines eaux usées et les sédiments ce qui a conduit à les arrêter.

Sylvie RABOUAN, Professeur de chimie analytique à l'Université de Poitiers

Se déclare à son tour étonnée par l'intervention liminaire de Sophie AUCONIE qui compte sur les seuls chercheurs pour trouver la solution de la qualité de l'eau. Elle rappelle que s'il est essentiel, en termes de norme, d'engager un changement de paradigme, la

solution ne viendra pas que de la norme. La question de la santé environnementale est cruciale.

André CIOLELLA, Président du Réseau Environnement Santé

Souligne que les normes pesticides et nitrates qui participent du contrôle de l'eau potable sont dénuées de sens. Le lien est aujourd'hui avéré entre nitrate/perchlorate et la croissance et, dans ces conditions, la prévention de la transformation de l'hémoglobine du nourrisson n'est pas pertinente. Faut-il continuer à maintenir la population dans l'ignorance ?

Yves LEVI, Université Paris Sud

Suggère de saisir l'ANSES.

Grégory LEMKINE, Directeur du Laboratoire Watchfrog

Souhaite souligner que les perturbateurs endocriniens ne sont pas une nouvelle classe de polluants. Ils ne se caractérisent pas par des mécanismes qui peuvent avoir des conséquences néfastes à l'échelle de l'organisme. Aussi, en abordant les questions d'oestrogènes, d'hormones thyroïdiennes et d'androgènes, la question ne sera pas de détecter des nanogrammes de substances, mais d'intégrer la physiologie dans l'évaluation des conséquences environnementales sur la santé humaine et animale. Une dizaine de méthodes sont déjà disponibles, standardisées et potentiellement applicables d'un point de vue réglementaire. Si l'évaluation de la qualité de l'eau a toujours été dévolue aux chimistes, elle doit aujourd'hui s'appuyer aussi sur des méthodes biologiques.

Un intervenant

Remercie l'ARS de s'être opposée, très récemment, au projet de construction de 112 bassines qui seraient des réserves de substitution pour l'agriculture industrielle et représentent des millions de mètres cubes d'eau polluée par des nitrates, des pesticides et des perturbateurs endocriniens. Ce projet a donné lieu à de nombreuses mobilisations citoyennes qu'il convient de multiplier pour éviter l'explosion de ce modèle d'agriculture qui participe de la prolifération des perturbateurs endocriniens.

Un intervenant

S'étonne que la famille des néonicotinoïdes n'ait pas été évoquée ce matin dans la liste des perturbateurs endocriniens alors qu'ils altéreraient la qualité spermatique des abeilles.

Un apiculteur

Confirme que néonicotinoïdes induisent une grande désorientation des abeilles à l'entrée de la ruche.

Une intervenante

Confirme que les pesticides peuvent aussi créer des phénomènes de dégénérescence neuronale en lien avec des phénomènes de perturbation endocrinienne.



SESSION 2

Doses faibles et enjeux forts : focus sur l'eau

Évolution de l'analyse de la contamination des milieux aquatiques de 1960 à aujourd'hui

Hélène BUDZINSKI

Co-directrice LabEx COTE et directrice de recherche au CNRS, groupe EPOC Université Bordeaux



Rappelle que l'eau est non seulement une ressource, mais aussi un lieu de vie. Or, tous les scénarios affirment qu'elle tend à se tarir. Il est donc essentiel de développer les travaux qui participent à comprendre la qualité de cette eau pour la préserver et la restaurer. Cette qualité est impactée par la présence de micropolluants en nombre quasi illimité générés tant des usages agricoles, industriels, domestiques, mais aussi naturels. Ils altèrent à terme le milieu aquatique qui est aussi un milieu réservoir. La qualité de l'eau impacte donc l'homme et tous les organismes qui y vivent ce qui laisse présager des problèmes de destruction des populations et des habitats.

Les directives et les règlements associés à la qualité de l'eau, s'ils ont le mérite d'exister, ne s'intéressent qu'à un nombre réduit de micropolluants. La DCE ne réglemente que 45 molécules alors que des milliers sont potentiellement préoccupantes. Ces micropolluants organiques et inorganiques ont été détectés dans les eaux de l'ensemble de la planète y compris en Arctique et Antarctique.

À peu d'exception près, tous les composés recherchés sont trouvés dans les eaux : métaux, hydrocarbure, plastifiants, produits cosmétiques, pharmaceutiques, des solvants, etc. Si tous ces composés ne sont pas des perturbateurs endocriniens, chaque classe de composés contient des perturbateurs endocriniens. La majorité de ces composés sont issus des usages domestiques : hormones naturelles insuffisamment traitées par les stations d'épuration, les hormones de synthèse à visée contraceptive ou de régulation de la ménopause, les alkylphénols présents dans les lessives, les pesticides, les acides fluorés utilisés dans les tissus antitaches, les tissus déperlants.

À partir des années 90, de plus en plus de composés ont été mis en évidence compte tenu de l'amélioration des techniques instrumentales et électroniques capables de détecter jusqu'au nanogramme voire au picogramme par litre. Dans ce contexte, les chimistes doivent se concentrer sur quelques centaines de molécules alors qu'elles sont aujourd'hui des milliers voire des millions. Sont également apparues des techniques coupant la chromatographie en phase liquide qui ont permis d'adresser des molécules hydrophiles. Les problématiques environnementales impliquent que le chimiste travaille sur des faibles concentrations, avec un seuil 0,1 nanogramme par litre qui est l'échelle de toxicité des hormones alors que la norme de qualité environnementale est fixée à 0,5 nanogramme par litre et la *predictive no-effect concentration* à 0,7 nanogramme par litre pour le supronyl. Ceci suppose des moyens de détection inférieurs à ces seuils, qui tendraient vers le picogramme par litre sachant que les matrices sont complexes et que les chimistes ne travaillent pas sur des molécules, mais sur des mélanges de composés de classes physico-chimiques différentes, dans un milieu excessivement variable et hétérogène. Le problème de représentativité est tant spatial que temporel sans oublier les problématiques de transformation de spéciation et de compréhension du lien entre la présence et l'effet toxique.

Présente trois types d'axes actuellement en développement : les outils d'échantillonnage, de stratégies analytiques, étude des phénomènes de transformation/spéciation. Au niveau de l'échantillonnage, la concentration est éminemment variable et peut conduire à une surestimation ou une sous-estimation. Il convient donc de connaître la tendance globale et la concentration moyenne intégrée sur le temps ce qui a nécessité le développement d'outils donnant cette vision. Ceux-ci développés ces vingt dernières années ressemblent à de petites éponges en polymère et à membranes ce qui permet aux composés de diffuser de l'eau dans l'outil qui sera ensuite analysé. Il est ainsi possible de définir la concentration moyennée dans le temps. Cet outil a été testé sur le fipronil, pesticide interdit à l'usage agricole, mais toujours utilisé comme biocide vétérinaire et pour le traitement des sols. Il présente une très forte toxicité. Il a été détecté en entrée et en sortie de station d'épuration de l'agglomération bordelaise, avec des concentrations de l'ordre de 40 nanogrammes par litre. Il n'a pas été détecté en milieu naturel, dans l'estuaire de la Gironde, compte tenu des limites de quantification de l'ordre de 2 nanogrammes. Pourtant, le fipronil est toxique dès 0,7 nanogramme par litre. Il a donc été décidé de le suivre avec des échantillonneurs passifs qui permettent d'abaisser la limite de quantification. Il a ainsi pu être détecté. Il s'avère présent partout en concentration parfois supérieure à sa dose sans effet, dans un très grand nombre d'eaux de surface et souterraines de la région, associées aux zones urbaines en lien avec la population soit dans le cadre d'usage thermique ou par le biais de la population canine. Sans échantillonnage passif, il n'aurait pas été mis en évidence.

S'il veut travailler sur une liste de suivi pertinente englobant tous les composés qu'il souhaite voir, le chimiste devra engager un mode ciblé vers un mode suspect, non ciblé qui implique une approche chimique répondant à une logique dénuée d'a priori. Ainsi, il s'appuiera sur des logiques d'empreintes chimiques qu'il comparera. Ces outils sont basés sur l'utilisation de statistiques assez développées pour pouvoir développer l'identification moléculaire de substances. Sur cette base, 7 500 molécules ont été détectées en entrée de station d'épuration. Il en restait 1 300 en sortie, mais 3 000 nouvelles étaient apparues issues de la dégradation des molécules initiales par boues aérées ou biofiltres. L'ouverture du spectre d'analyses a permis d'élargir l'étude et de détecter des molécules qui n'étaient pas recherchées. C'est ainsi que le médicament Gabapentine qui ne figurait ainsi pas dans les molécules cherchées a pu ainsi être trouvé. Il a également été retrouvé dans les eaux de surface des rivières autour de Bordeaux. La petite rivière en aval de la station d'épuration n'est finalement qu'une station d'épuration diluée.

Il est également nécessaire d'améliorer la sensibilisation, d'automatiser et de miniaturiser. Les composés fluorés comportent toutes sortes de molécules hydrophobes avec des têtes hydrophiles. Ils sont utilisés pour les vêtements, les matériaux et emballages

alimentaires, les bouches anti-incendie et les produits de dégivrage des avions. Ils sont présents partout et associés dans tout notre mode de vie. Ils sont d'une persistance remarquable et d'une grande toxicité. Ce sont des perturbateurs endocriniens. S'intéressant à des juvéniles d'oiseaux dans le cadre d'un suivi environnemental en Arctique et Antarctique, les chimistes ont cherché à travailler sur de petits volumes, selon une méthode permettant de travailler sur 25 microlitres de plasma avec des instruments totalement automatisés pour éviter toute contamination de l'échantillon. Cette miniaturisation a permis de détecter sur les juvéniles de manchot empereur, de pétrels et de squaw la présence de ces composés, particulièrement chez ce dernier qui se nourrit des déchets de ses congénères et qui est plus migrateur. Ces faibles doses permettront aussi d'expliquer les phénomènes d'interaction avec les cibles (récepteurs, glandes, protéines, etc.)

Enfin, les chercheurs s'investissent dans les produits de transformation dans la mesure où 70 % des composés sortants d'une station d'épuration sont des composés générés. Il est important de commencer à étudier ces composés sortants en s'appuyant sur la spectrométrie de masse à haute résolution. La Venlafaxine qui entre dans la station, mais ne figure plus en sortie a été examinée soit par les méthodes *in silico*, soit par des méthodes de réactivité en laboratoire et en modélisant les produits de transformation obtenus à partir de cette molécule par le biais de la spectrométrie de masse haute résolution. L'intérêt de cette technique est que, sans savoir le composé, il est possible de mettre en évidence les potentiels produits de transformation.

En conclusion, le chimiste peut aujourd'hui mettre en évidence de plus en plus de composés dans le milieu naturel à partir de listes réduites de molécules, sait travailler au nanogramme par litre, peut caractériser les mélanges de plus en plus complexes. Il est confronté à des logiques de variabilité et doit développer des logiques d'intégration ou de haute fréquence pour aller vers un diagnostic de source pour pouvoir agir avec des mesures de gestion de dégradation, de remédiation. Il doit adresser les produits de transformation, ce qui est un enjeu majeur. Il reste limité face à l'effet de mélanges et dans la notion de lien présence/effet. Les biotests *in vitro* n'utilisent pas la chimie, mais la réponse biologique et correspondent à des analyses dirigées par les effets.

Des biotests installés dans un continuum de station d'épuration ont mis en évidence par des tests de récepteur à l'œstradiol, à glucocorticoïdes ou à androgènes que des molécules répondaient. Les échantillons présentant une réponse biologique ont été fractionnés. Trois fractions étaient actives. L'effort analytique a été ciblé sur ces trois fractions. Un certain nombre de molécules ont été trouvées : des phytopathogènes, des parabènes, des composés des acides choliques.

Effets sanitaires de l'exposition des femmes enceintes aux perturbateurs endocriniens dans l'eau : BPA, dérivés chlorés du BPA, atrazine

Antoine DUPUIS

Pharmacien, professeur à la faculté de pharmacie de Poitiers et membre HEDEX INSERM Université Poitiers



Souligne, en préambule, que la population des femmes enceintes, exposée à travers différentes sources allant de l'alimentation à l'eau, est extrêmement vulnérable aux perturbateurs endocriniens. À certaines périodes de la vie, l'exposition à ces perturbateurs entraîne des effets néfastes. C'est le cas de la période foetale, postnatale, de la puberté et de la périconception. Cette base est celle qui a assis l'hypothèse de la DOHAD qui avance que des maladies ont pour origine des expositions à des perturbateurs endocriniens durant ces périodes précoces de la vie. L'accident tragique du distilbène dont la composition est proche de celle du bisphénol A a permis de mettre en exergue les effets transgénérationnels de ce type

de molécule. Ces effets trouvent leurs sources dans les phénomènes épigénétiques qui correspondent à des modifications de l'environnement de ce génome qui sont transmises au fil des générations d'où l'importance de la période de la grossesse.

Trois grandes cohortes existent en France, la cohorte Pelagie en Bretagne, la cohorte Eden à Nancy et Poitiers et la plus importante, la cohorte Elfe, qui réunit 18 000 femmes sur l'ensemble du territoire. L'étude EEDS présentée sur les femmes enceintes s'appuie sur une cohorte réalisée en Poitou-Charentes. Elle s'est intéressée aux usages de l'eau de la femme enceinte faute d'études disponibles par ailleurs, à l'aide d'un questionnaire.

Sur 132 femmes enceintes, 94 % buvaient de l'eau du robinet ; seule la moitié consommait de l'eau en bouteille. Elles consommaient environ à 1,8 litre d'eau par jour ce qui correspond aux usages au sein de la population française en général. Le contact cutané avec l'eau a été évalué notamment à travers l'hygiène et fixé à trois heures par semaine. L'usage de l'eau était stable au cours de la grossesse à l'exception du lieu de consommation qui évoluait du deuxième au troisième trimestre compte tenu de l'interruption d'activité professionnelle au troisième trimestre.

Le dernier rapport réalisé sur la cohorte Elfe donne des éléments sur l'exposition à des micropolluants à travers un échantillon de la cohorte : 4 500 femmes ont eu des dosages de polluants organiques. 74 % des échantillons contenaient du bisphénol A, quantité augmentant avec la consommation d'aliments ou de boissons contenus dans les emballages plastiques et avec la présence de linoléum dans le logement ou de temps passé devant la télévision (contamination par l'air ambiant). Tous les échantillons de ces femmes contenaient des phtalates dont la concentration augmentait avec la consommation d'aliments plutôt gras dans des emballages plastiques, l'usage de certains produits cosmétiques, d'hygiène et de

la peinture ainsi que des pesticides notamment la famille des pyréthrinoïdes (insecticides). 1 % des échantillons contenait de l'atrazine, pourtant retiré du marché depuis 2003.

Peu d'équipes se sont intéressées à l'exposition aux perturbateurs endocriniens de femmes enceintes via l'eau. Une étude réalisée dans la cohorte Pelagie réunissant 570 femmes visant à détecter la présence de pesticides dans les urines a permis de retrouver un certain nombre de pesticides, dont l'atrazine. Une relation a été recherchée entre la présence d'atrazine dans les urines de ces femmes et leur consommation d'eau, leur lieu habitat (présence du logement proche de zone de culture), leur consommation de poisson. Seule une relation avec la consommation d'eau a été établie en lien avec l'arrêt de commercialisation de l'atrazine. Ce pesticide est donc moins présent dans les aliments, mais, par son effet rémanent, persiste dans l'eau. La cohorte EDDS est une cohorte de femmes enceintes constituée sur la base du lieu de logement, se focalisant sur celles vivant dans des communes des Deux-Sèvres alimentées en eau par une station de traitement essentiellement approvisionnée par des eaux superficielles et donc censément plus riches en micropolluants que d'autres types de stations. Des femmes ont été recrutées dans cette zone et ont répondu à des questionnaires. Des prélèvements d'eau ont été effectués à leur domicile et sur leur lieu de travail au deuxième et au troisième trimestre ainsi que des prélèvements d'urines à cette même période, ainsi qu'un prélèvement de colostrum après l'accouchement. Sur ces échantillons, ont été dosés du bisphénol A, ses dérivés chlorés et les parabènes. Les dérivés chlorés du bisphénol A ont une origine purement hydrique à l'exception du tétrachlorobisphénol A car ils sont utilisés pour traiter l'eau potable. Ils ont un pouvoir œstrogénique cent fois plus important que le bisphénol A lui-même. Une étude a par ailleurs montré une relation entre les concentrations urinaires en monochlorobisphénol A et l'obésité. À ce jour, seuls les résultats des urines et du colostrum sont disponibles. Le bisphénol A ainsi que ces dérivés chlorés sont présents dans un grand nombre d'échantillons urinaires pour 80 % des femmes de la cohorte. De nombreux échantillons de colostrum contenaient du BPA et des dérivés chlorés du BPA. Au final, 82 % des échantillons prélevés chez les femmes contenaient des dérivés chlorés du bisphénol A.

Très peu de données sont disponibles sur les effets sur la santé concernant l'exposition des femmes enceintes aux perturbateurs endocriniens via l'eau potable. Quelques études se sont intéressées à l'exposition aux nitrates et à l'atrazine selon une approche semi-écologique (monitoring de l'environnement) avec, comme issues de santé, un petit poids de naissance ou la prématurité. Ces études ont montré un lien entre l'atrazine présent dans l'eau de consommation de ces femmes et un petit poids de naissance, entre des taux de nitrates dans l'eau de boisson et le poids de naissance. Ces études montrent un lien entre certains perturbateurs endocriniens contenus dans l'eau et des issues de santé concernant des retards de croissance qui pourraient être corrélés à des maladies chroniques.

Dans le cadre d'une étude sur l'effet cocktail, une cohorte historique de femmes enceintes a été constituée en récupérant les taux d'atrazine et de nitrates retrouvés dans les unités de distribution des communes où les femmes vivaient. Le certificat de naissance (données de la PMI) a permis de connaître le poids de naissance des enfants. Sur 11 446 couples mère-enfant répartis sur 263 communes, 37 % des femmes étaient exposées aux pesticides (atrazine) et 99 % aux nitrates. Dans cette cohorte, 8,6 % des nouveau-nés avaient un petit poids de naissance. Les prélèvements présentant des dosages de nitrates ont été classifiés en fonction du taux de nitrate. Pour les pesticides, la classification s'est opérée en fonction de l'absence ou de la présence de pesticides dans l'unité de distribution de l'eau de ces femmes. En moyenne, ont été retrouvés 21 milligrammes de nitrate par litre d'eau et 40 nanogrammes d'atrazine. Au deuxième trimestre, 25 % de ces femmes étaient exposées à la fois aux pesticides et aux nitrates. Une relation a pu être démontrée entre un important taux de nitrates au deuxième trimestre et le petit poids de naissance, venant confirmer la littérature existant sur le sujet. Cependant, cette relation n'était plus vraie en présence également de pesticides ce qui amène à conclure à un probable effet cocktail antagoniste entre l'atrazine et les nitrates.

Une seule étude utilisant des biomarqueurs est pour l'instant disponible mesurant la relation entre une exposition à des perturbateurs endocriniens à travers l'eau et un effet chez la femme enceinte. Cette étude issue de la cohorte Pelagie a investigué la relation entre la présence de nitrate dans les prélèvements urinaires et les retards de croissance intra-utérins. Cette cohorte a montré que l'exposition à l'atrazine entraînait un surrisque de 50 % supplémentaire d'avoir un enfant de faible poids et un surrisque de 75 % supplémentaire d'avoir un enfant avec un petit périmètre crânien. Ces études amènent à conclure qu'il faut agir tôt dans la vie pour avoir un impact important sur les effets de la santé.

Dans ces conditions, l'étude PREVED a été engagée. Elle s'adresse aux femmes enceintes et a pour objectif d'évaluer les effets d'un programme de prévention de la santé environnementale sur les femmes enceintes afin de minimiser leur exposition aux perturbateurs endocriniens. Dans ce cadre, certaines femmes enceintes recevront un simple programme de prévention (bras un), d'autres, un programme d'éducation plus complexe (bras deux) dans un milieu décontextualisé, et enfin, un troisième groupe (bras trois) dans un milieu contextualisé avec pour objectif de limiter leur exposition. Cette cohorte est en cours de constitution. Les femmes seront évaluées avant et après intervention.

Produits domestiques et contamination de l'eau : un problème à traiter à la source

Régis MOILLERON

LEESU (Laboratoire Eau Environnement et Systèmes Urbains)



Précise que son équipe s'est interrogée sur l'origine des perturbateurs endocriniens qui se retrouvent dans les stations d'épuration et, *in fine*, dans les milieux récepteurs, à l'aune des eaux domestiques. Les eaux industrielles sont-elles bien renseignées, car nombre d'obligations incombent désormais aux industriels. En revanche, peu d'informations sont disponibles sur les eaux domestiques. Une première thèse (d'Alexandre Bergé, 2012) a été réalisée et s'est attachée à observer l'origine de deux familles : les phtalates et les alkylphénols. A l'échelle de l'agglomération parisienne, les flux arrivant en entrée de station d'épuration proviennent essentiellement des eaux usées d'origine domestique. Une seconde thèse

(Steven Deshayes, 2015) s'est concentrée sur les eaux domestiques, plus particulièrement les eaux grises, les échantillons d'eau provenaient de 70 volontaires. Les résultats concernent trois grandes familles de polluants : les phtalates, les alkylphénols et les parabènes. Les parabènes se retrouvent dans les cosmétiques et les médicaments sous un nom différent. Ces molécules n'ont pas d'obligation réglementaire, elles ont été suivies dans les eaux usées dans le cadre de la thèse de Darine Geara-Matta en 2012. Cinq ans plus tard, ces mêmes molécules ont été observées dans le cadre d'une autre thèse (Sifax Zedek) et avaient fortement chuté. En effet, les parabènes sont utilisés dans les produits cosmétiques dès 1924 pour leur vertu antimicrobienne avant de s'étendre à d'autres champs dont les médicaments jusqu'à ce qu'en 2004, soit évoqué le lien probable entre le cancer du sein et l'exposition au parabène par une chercheuse anglaise (P. Darbre). Cette hypothèse relayée un an plus tard par un reportage télévisé de grande audience a eu un fort retentissement alarmant le grand public et les producteurs de cosmétiques. Ceux-ci ont

immédiatement réagi, pour ne pas perdre de parts de marché, en changeant de conservateurs, soit en arrêtant les gammes traditionnelles au profit de gammes « bio », soit en utilisant des substituants aux parabènes dont les méthylchloroisothiazolinone, méthylisothiazolinone, phénoxyéthanol, etc. Dans ce contexte, a été engagé le projet Cosmet'eau qui s'intéresse à des mesures classiques de contaminants des habitations jusqu'au milieu récepteur. Celui-ci a relevé que le lancement d'alerte avait rapidement fait chuter les niveaux de concentration dans les eaux usées.

Les alkylphénols et les phtalates ont été examinés à l'aune de la thèse d'Alexandre Bergé en 2012 puis celle de Steven Deshayes en 2015. Les premières affichent une forte décreue entre 2012 et 2016 pour des raisons réglementaires, ayant été frappées entre-temps d'une interdiction dans les formulations et les emballages des produits cosmétiques. La tendance est inverse pour certains phtalates dont le niveau de concentration a significativement augmenté.

L'objectif était de mesurer les concentrations dans les eaux grises générées par les foyers, décomposées en eaux issues des douches, des lave-linges, des lavabos, de la vaisselle manuelle, des lave-vaisselles et de l'eau pour le lavage des sols. Pour les alkylphénols, les phtalates et les parabènes, les flux majoritaires proviennent des eaux issues des douches et des lave-linges. Il s'avère que tous les types d'eaux grises sont contaminés par toutes les molécules. Il a ensuite été demandé aux volontaires de décomposer leurs pratiques quotidiennes en matière de douche sans et avec produit, de lessive avec ou sans produit. Il a été constaté que, dans la douche, le flux pour les parabènes était majoritairement généré par les volontaires et les produits utilisés ; pour les alkylphénols, par le produit, pour les phtalates par les volontaires et le produit. Pour les lave-linges, le linge est le plus gros pourvoyeur de parabènes ; pour les alkylphénols et les phtalates, c'est le linge et les produits.

En conclusion, toutes les eaux grises sont contaminées. Le remplacement des parabènes par la méthylisothiazolinone proposés par les industriels ne semble pas pertinent, car les substituts sont sources importantes d'allergies importantes. Ils ont d'ailleurs été interdits récemment dans les produits dits non rincés. La sensibilisation du grand public par le biais de rencontres et colloques comme celui-ci paraît une piste intéressante. Il faudrait aussi apprendre à celui-ci à mieux s'informer en ayant accès à la composition de tous les produits sur les emballages.

De la mesure de la concentration à la mesure de l'effet biologique de l'eau

Grégory LEMKINE

Directeur du Laboratoire Watchfrog



Depuis douze ans, Watchfrog se dédie exclusivement aux perturbateurs endocriniens par le biais d'évaluations et de tests sur les produits, substances et eaux susceptibles de présenter une activité endocrinienne menant à une perturbation. La surveillance biologique répond à la particularité des perturbations endocriniennes en cela qu'elle ne se base pas sur une liste de substances. Les effets endocriniens se caractérisent par les effets sur les

grandes fonctions de notre organisme et les effets cocktails, additifs qu'il peut y avoir entre les substances. Pour les mesurer, il est important d'adopter une approche physiologique. Le mot endocrinien s'applique à ce qui constitue le milieu intérieur de notre organisme. La biosurveillance est le pendant nécessaire de l'analyse physico-chimique, le tout donnant une indication intégrative de l'impact que peut avoir l'environnement sur notre physiologie.

Tout comme les perturbateurs endocriniens, les micropolluants peuvent avoir des effets néfastes sur la santé même à des faibles concentrations, inférieures au seuil réglementaire. Ils englobent également les perturbateurs endocriniens. L'impact sur notre organisme se traduit par une tentative de notre organisme de s'adapter à cette manifestation qui le perturbe et, pour ce faire, met en œuvre son système hormonal. Cette variation hormonale ou activité endocrinienne permet de concrétiser l'effet que peuvent avoir les perturbateurs endocriniens et les micropolluants sur notre organisme. Les critères adoptés par la Commission européenne pour les biocides l'ont été également pour les produits phytosanitaires pour les États membres. Ils seront mis en œuvre, pour les biocides en juin 2018 et pour les produits phytosanitaires en juillet. Le système endocrinien est dynamique et réagit à nos humeurs et nos émotions ; les hormones pilotent les grandes fonctions de notre organisme (métabolisme, reproduction, système immunitaire, nerveux, etc.). La question est de savoir si l'activité endocrinienne est délétère ou non sur l'humain et sur la faune. Le terme de perturbateur endocrinien ne vaut que si l'effet est néfaste. Telle est la définition adoptée par l'Europe sur la base de celle de l'OMS.

Précise que les hormones thyroïdiennes contrôlent le développement de notre système nerveux, notre rythme cardiaque, le modèle gastro-intestinal, le métabolisme, la spermatogenèse, la stabilité émotionnelle, etc. Elles permettent à un têtard d'amphibien de se métamorphoser en grenouille. Sans cette molécule, il reste à l'état d'individu larvaire ce qui prouve l'importance des hormones. Celles-ci sont véhiculées dans notre organisme et l'action de la perturbation thyroïdienne est très rarement au niveau du récepteur, mais au niveau de leurs formes actives et inactives (les enzymes). Des centaines de produits chimiques peuvent perturber ces enzymes. Cette démonstration montre l'importance de disposer d'un organisme entier pour ces modèles. Aussi, les tests ont été effectués sur les œufs puisque les hormones se mettent en jeu dès le premier jour de notre développement. Le travail s'est poursuivi sur les larves qui obéissent aux mêmes hormones œstrogènes que les humains. Comme elles sont transparentes, l'observation de l'action des hormones transcrite par une émission de fluorescence était plus simple. Le niveau de fluorescence a permis de quantifier le pouvoir des perturbateurs. Il a donc été possible de visualiser tous les mécanismes de perturbation pouvant interférer avec ces hormones.

Toutes ces substances finissent dans l'eau et donc dans les océans, mais avant dans les rivières. Le réseau Solutions, composé de 39 laboratoires européens visant à développer les outils pour modifier la façon d'évaluer la qualité de l'eau en Europe, a publié une étude portant sur l'identification d'un composé antiandrogène dans les eaux de surface, selon une approche dirigée par l'effet. Cette étude s'est appuyée sur la rivière allemande d'Holtemme, avec un point de prélèvement en aval d'une centrale d'épuration. Des tests chimiques, *in vitro* et *in vivo* ont été réalisés. Les tests *in vivo* ont couvert l'ensemble des axes hormonaux visés par la réglementation : hormones féminines, masculines, thyroïdiennes et la stéroïdogénèse, avec des modèles aquatiques.

L'analyse par les effets menée dans le cadre de l'étude de la rivière d'Holtemme a mis en évidence un effet antiandrogénique de l'échantillon d'eau sur les récepteurs hormonaux. L'échantillon a ensuite été fractionné et une fraction présentant une activité antiandrogénique particulièrement forte a été isolée. Ce fractionnement a permis d'identifier la molécule participant de l'activité antiandrogénique ; il s'agissait de la coumarine 47. Les larves de poisson s'éteignaient bien quand elles étaient exposées à cette fraction chargée de cette molécule. Il a été vérifié que, dans les reins où les androgènes doivent être capables de mettre en œuvre un programme morphogénétique nécessaire à la reproduction, la coumarine 47 était capable d'éteindre le signal de fluorescence et donc l'appareil

reproducteur. Puis, la coumarine 47 a été comparée avec la coumarine 47T1 (produit de dégradation de la coumarine), la flutamide (antiandrogène de référence utilisée pour le cancer de la prostate). La coumarine 47 parvient à détruire totalement le signal androgénique à partir de 100 microgrammes par litre alors qu'il faut deux à trois fois plus de concentration pour la flutamide pour produire le même effet. La coumarine 47 est donc apparue comme un actif ultrapuissant si on le compare au traitement du cancer de la prostate. La concentration de coumarine 47 retrouvée dans la rivière d'Holtemme équivaut, en termes d'effet, à mettre deux capsules de flutamide de 125 mg par mètre cube d'eau.

Les outils de la biosurveillance peuvent s'appliquer pour les eaux usées, l'eau potable et les ressources aquatiques. Des communes les ont déjà déployés en France pour la surveillance des stations d'épuration, en entrée, en sortie, en amont et en aval du rejet. Des études sont en cours sur des ressources de potabilisation. Les perturbateurs endocriniens, comme le perchlorate, ont d'ailleurs déjà donné lieu à deux arrêtés préfectoraux qui portaient sur la perturbation endocrinienne des ressources aquatiques.

Signale qu'une dizaine d'entreprises se sont attachées à standardiser les tests afin qu'ils soient exploitables. Ceux développés par Watchfrog répondent aux normes AFNOR sont les seuls à être standardisés dans le monde. Le déploiement des outils de biosurveillance pour évaluer la qualité de l'eau fait consensus depuis 2006. L'INERIS et l'Agence Française de la Biodiversité ont référencé une centaine de tests, la plupart issus de la recherche publique, car ils répondaient à une attente des agences et organismes publics. Pour les promouvoir, une décision politique visant à mettre en place un dispositif incitatif de la mesure environnementale s'impose. De cette façon, il serait possible d'aboutir à des études documentées sur la qualité de l'eau en France.

Échanges avec la salle

Un intervenant

Suppose que les activités de chimiothérapie prennent une large part dans la contamination de l'eau. Il est surprenant, dans ce contexte, que les eaux usées des hôpitaux ne fassent pas l'objet d'un circuit de collecte différencié.

Un représentant de l'ARS

N'a pas connaissance de programme dédié à cette question qui soulève nombre d'interrogations dont l'appartenance du réseau d'effluents.

Souligne que le rôle de l'ARS n'est pas de multiplier les initiatives. Elle a augmenté de 21 % ses crédits de promotion et de politique de prévention. Elle ne prendra pas l'initiative d'écrire un cahier des charges pour un programme de différenciation des eaux usées hospitalières, mais il est possible qu'un collectif de médecins s'en charge et le soumette à la direction générale de l'ARS qui en évaluera la pertinence.

Yves LEVI, Université Paris Sud

Signale que les produits anticancéreux ne se retrouvent pas uniquement dans les eaux usées des hôpitaux compte tenu des traitements ambulatoires. Une étude menée à Lausanne sur les effluents du CHU a conclu qu'il était préférable de collecter l'ensemble des eaux et de les acheminer vers la station d'épuration urbaine puissamment efficace et gérée par des spécialistes. Il n'est pas pertinent d'adosser une station d'épuration à chaque hôpital induisant des risques de contamination, une gestion technique complexe et coûteuse avec du personnel spécialisé.

Grégory LEMKINE, Directeur du Laboratoire Watchfrog

Met en avant qu'en France, la philosophie des politiques est de mener des actions correctives sur les polluants identifiés à la source au détriment de politiques de prévention. La Suisse a préféré améliorer les stations d'épuration existantes à même de capter et de traiter les eaux y compris les eaux hospitalières. Cette solution ne s'est finalement traduite que par une augmentation de 6 % des coûts d'assainissement sur cinq ans, au niveau fédéral. Un traitement global est n'est pas incompatible avec un traitement spécifique des sources de pollutions.

Gérard BAPT, Président du groupe de suivi du plan national de santé environnementale

Souligne que ce problème relève non de l'ARS, mais de la DGOS et de l'allocation des crédits d'investissement des établissements. Les investissements requis pour la différenciation des canalisations d'eau ne peuvent être réalisés que par les établissements hospitaliers financièrement robustes. De plus, ces molécules ne sont pour l'instant pas traitées par les filtres stations d'épuration. Une entreprise toulousaine avait trouvé une méthode radiophysique capable de casser toutes les substances chimiques. Elle n'a pas trouvé d'issue à ce jour.

Grégory LEMKINE, Directeur du Laboratoire Watchfrog

Assure qu'avec le charbon actif ou l'ozone, il est aujourd'hui possible de traiter la pollution chimique en sortie de station d'épuration à des coûts acceptables.



SESSION 3 :

REPONDRE AU DEFI DES FAIBLES DOSES, QUELLES NORMES POUR DEMAIN ?

Les perturbateurs endocriniens induisent des enjeux majeurs pour la gestion des eaux

Yves LEVI

Professeur à la faculté de pharmacie de l'Université Paris Sud - Vice-Président de l'Académie de l'eau



Souligne l'intérêt de la population française pour la problématique des perturbateurs endocriniens (PE). Le niveau de contamination de l'ensemble des cycles de l'eau est jugé suffisamment sérieux pour qu'il faille maintenant appréhender le problème dans sa globalité. La gestion de l'eau doit s'opérer par bassin-versant ce que la France réussit plutôt bien.

En France métropolitaine, le « petit » cycle de l'eau (ou cycle des usages de l'eau) s'articule autour de la production, de la distribution, des usages, de la collecte des eaux usées et de leur traitement ; il fonctionne assez bien au moins en France métropolitaine. Les pénuries d'eau douce dans le monde amènent à promouvoir la récupération des

eaux usées pour irriguer les cultures voire pour la production d'eau potable (dans certains pays) pour autant que cette eau soit de qualité et purifiée. Ce schéma n'est pas le cas dans de nombreux pays de sorte que les eaux d'irrigation des cultures sont très contaminées. Depuis une quinzaine d'années, les technologies du traitement de l'eau potable et celles des eaux usées tendent à se rapprocher pour éliminer les micropolluants. Les risques de contamination sont à tous les niveaux, depuis l'eau brute (impliquant la restauration des milieux aquatiques et des réseaux d'assainissement y compris le traitement des boues) aux canalisations, en passant par les filières de traitement des eaux potables, le transport et le stockage. À chaque étape il peut se produire une contamination, comme par exemple dans le cas des résines epoxy d'étanchéité qui peuvent parfois relarguer du bisphénol A. Les pratiques des usagers sont également en cause, car l'utilisation de carafes en plastique peut aussi conduire à la contamination de l'eau même si elle était de bonne qualité délivrée au robinet. La France se doit de garantir, en permanence, une distribution d'eau potable

conforme aux normes, pour l'ensemble de sa population sans oublier celles des petites communes et l'outre-mer, à un prix accessible par tous. En France, ce sont surtout les petites communes qui souffrent de non-conformité. La gestion des résidus de traitements est aussi un problème de taille (boues, concentrats de filtrations membranaires...). Ces problématiques exigent des décisions politiques importantes et rapides en termes d'investissement alors que la science met du temps à répondre. Les décisions d'investissements dans le traitement des eaux se font à échéance moyenne voire courte ce qui n'est pas souvent le temps de la science pour des sujets aussi complexes que l'évaluation des risques liés aux traces de perturbateurs endocriniens. Devant une exposition importante et chronique de l'environnement, la variabilité importante des concentrations dans les ressources, citoyens et acteurs des traitements, tant des effluents d'eaux usées que pour la production d'eau potable, réclament des valeurs limites environnementales. Cette fixation de valeur est complexe compte tenu de l'impressionnante liste des molécules polluantes et de la diversité des effets et exige de procéder par évaluation des risques. En France, c'est l'ANSES qui est chargée de cette évaluation. En cas d'absence de littérature robuste et documentée sur la toxicité des contaminants, elle se trouve parfois démunie face à des concentrations extrêmement faibles, une exposition chronique et une liste très longue de molécules.

Même si tous les citoyens sont responsables d'une part de cette pollution, il est anormal de les culpabiliser puisqu'ils sont, chaque jour, exposés aux campagnes publicitaires faisant la promotion de produits conduisant à la diffusion dans l'environnement de ces toxiques. Plutôt que cette culpabilisation, il est préférable de mettre en place des systèmes de prévention en amont, tout en amenant cependant les citoyens à se mobiliser contre cette pollution par une information objective et transparente. Il faut pouvoir imposer aux gestionnaires des outils de surveillance et de décision (analytiques, bioessais) fournissant des résultats facilement interprétables. La mise en place d'analyses en routine de tous les effets perturbateurs endocriniens n'est pas possible. Une liste prioritaire de molécules existe déjà, mais l'analyse du risque implique de connaître toutes les expositions par l'air, l'eau, les aliments, les cosmétiques... Il serait important d'arriver à identifier des indicateurs donnant, par extrapolation, une estimation du panel des contaminants. Ils n'ont, pour l'instant, pas été trouvés. Il n'est pas non plus encore possible de prédire les effets liés aux mélanges avec les techniques *in silico* ni de mesurer toutes les cibles de perturbation. L'épidémiologie serait l'idéale, mais très compliquée en raison des signaux faibles et en l'absence d'un lien avéré de causalité à l'exception de celui établi pour les cancers hormono-dépendants. La surveillance des effets des perturbateurs endocriniens ne se situe pas encore au niveau de la routine et reste au niveau des études en dépit des nombreux types d'essais existants. Les analyses, aujourd'hui, suffisamment nombreuses, ont permis de progresser dans la connaissance et doivent maintenant être suivies de décisions concrètes.

Le sujet progresse toutefois. L'Union européenne commence à admettre l'introduction, dans les normes de surveillance de la qualité des masses d'eaux, d'un parallèle entre les analyses physico-chimiques et des bioessais ce qui permettra de passer à des mesures globales d'effets. Aucune réglementation n'existe sur les perturbateurs endocriniens dans l'assainissement, ni dans les eaux destinées à la consommation humaine, mais un projet récent de directive européenne fait apparaître, au nom du principe de précaution, trois molécules à doser dans l'eau délivrée aux consommateurs : le bisphénol A, le 17-betaœstradiol et le nonylphénol. Ce projet crispe les spécialistes pour le 17-betaœstradiol et le nonylphénol qui préconisent seulement un dosage en entrée et si nécessaire en sortie d'usines de traitement. Les molécules perfluorées apparaissent également dans le projet, mais ne sont pas classés dans les perturbateurs endocriniens alors qu'elles en possèdent des effets pour certaines. Concernant les matériaux, tous sont actuellement contrôlés via une attestation de conformité sanitaire, mais la prochaine directive aurait des velléités de réduire ces contrôles. Une liste de surveillance de polluants prioritaires, qui comprend un certain nombre de molécules, permettra de renforcer la connaissance sur les contaminants dans les ressources pour ensuite définir ceux qu'il convient de surveiller en routine.

En termes de gestion, le programme REACH cherche à interdire la mise sur le marché de molécules problématiques. Il convient également de réduire les intrants volontaires selon des objectifs tenables, de réveiller la conscience citoyenne, de renforcer la surveillance des rejets en lui adossant une police *ad hoc*, de s'occuper de l'épuration des rejets. Concernant l'eau potable, il est nécessaire d'optimiser et de fiabiliser toutes les usines, d'utiliser des matériaux les plus inertes possible, de suivre des plans de sécurité sanitaire et d'aider les petites structures. Il faudra faire évoluer l'urbanisme en intégrant la notion de santé et d'environnement dans la ville.

De nombreux types de traitements d'eau sont disponibles : la biodégradation pour les molécules biodégradables mais avec un temps de contact qui doit être adapté pour favoriser les éliminations, l'oxydation avec l'ozone qui casse les molécules, mais qui génère parfois des bromates comme sous-produits problématiques, l'adsorption sur du charbon actif à condition qu'il soit renouvelé ou régénéré fréquemment, la rétention avec les traitements membranaires de nanofiltration ou d'osmose inverse à condition de savoir traiter les concentrats. Certaines stations d'assainissement des eaux usées (STEU) ont complété leur filière avec des traitements tertiaires principalement basés sur l'ozonation et le charbon actif, solution qu'a choisie la Suisse en prévoyant d'équiper une centaine de ses STEU pour traiter notamment les rejets de médicaments. Ainsi le schéma des STEU commence à ressembler à celui des usines d'eau potable. Au surplus, ces stations n'éliminent pas toutes les molécules présentes dans l'eau, mais cette solution permettrait de limiter les niveaux de rejets. S'ajoute à cela la question de la gestion des boues de traitement. Le coût de l'ensemble est significatif. D'autres types de traitements des eaux usées existent comme le lagunage, les bioréacteurs à membranes, les lits filtrants dont les efficacités pour éliminer ces micropolluants est variable. Enfin, il ne faut pas oublier l'assainissement non collectif. Au niveau de l'eau potable, les villes et les pays les plus riches se sont dotés de filières coûteuses basées sur un schéma intégrant une précipitation en entrée de l'usine qui permet de coabsorber certains contaminants sur les boues, une filtration sur sable, de l'ozonation, une filtration sur charbon actif avant désinfection au chlore et/ou aux rayonnements ultraviolets. Des nouvelles technologies, développées au cours des 20 dernières années, sont basées sur la rétention membranaire (ultrafiltration, nanofiltration, osmose inverse). Il est ainsi possible de produire une eau de très bonne qualité à un coût un peu plus élevé. La distribution et le stockage doivent ensuite être assurés au contact de matériaux inertes pour éviter toute contamination de l'eau. Pour être optimisés, ces différents outils nécessitent des valeurs guides basées sur une évaluation de risques par des comités d'expertise collectifs.

Dans l'attente des évaluations précises du risque sanitaire liés aux mélanges de micropolluants dans les eaux potables, et par précaution, des décideurs choisissent d'implanter les technologies les plus performantes. Compte tenu de leurs coûts, il est indispensable de bien définir le niveau d'acceptabilité du risque afin de ne pas augmenter inutilement le prix de l'eau lorsque ce n'est pas nécessaire. Pour cela il faut renforcer les pratiques d'analyses et les bioessais pour caractériser en amont les molécules prioritaires selon le type de ressources et les risques pour l'environnement et pour la santé publique. Il faut que ces bioessais soient capables de fournir des résultats extrapolables à la santé humaine.

En conclusion, l'exposition aux perturbateurs endocriniens concerne tous les compartiments de l'environnement et n'est pas circonscrite à l'eau. L'accès à l'eau potable et l'assainissement sont une priorité absolue de santé publique. La situation est particulièrement critique en raison des multiples contaminants, des effets des mélanges, de l'exposition chronique à tous les PE. Plutôt qu'agir en curatif en traitant en aval, il est essentiel de protéger et de restaurer la qualité des ressources. Toutefois il faut protéger l'eau de ses contaminations jusqu'aux points d'usages. Heureusement, analyses et bioessais commencent à être associés pour progresser dans la connaissance. Les groupes d'expertise collective sont d'importance majeure pour obtenir des quantifications des risques objectives, complètes et cohérentes. Les décisions de gestion et d'investissement financiers pour

améliorer les traitements des eaux doivent être accompagnés d'orientations sociétales au regard de la consommation de tous les produits émettant des PE dans l'environnement, ce qui doit être éclairé par le travail des scientifiques en sachant associer les compétences des biologistes, des épidémiologistes, des toxicologues, des ingénieurs, des sociologues et des économistes pour éviter les biais, les pressions des lobbies et les pressions commerciales.

La 2e phase de la Stratégie Nationale Perturbateurs Endocriniens

Gérard BAPT,

Président du groupe de suivi du plan national de santé environnementale



Rappelle que le plan national de santé environnement a eu le mérite d'intégrer l'enjeu de l'eau dans ses deux précédentes versions ayant eu pour effet de mettre en place le plan de réduction des micropolluants dans l'eau potable, d'imposer des mesures efficaces de protection des captages et des normes de qualité pour l'eau potable venant des stations de distribution. Le Plan national santé environnement dans sa troisième version est en attente de décisions nationales par rapport à la question de l'eau. La proactivité de la France sur la question des perturbations endocriniennes au sein de l'Union européenne a permis de faire entrer la définition des perturbateurs endocriniens dans les politiques d'actions européennes. Le rapport

d'inspection des trois corps ministériels a acté ce changement de paradigme, évoquant la stratégie nationale de recherche sur les perturbateurs endocriniens. Ce rapport a compris les enjeux des différents travaux du réseau environnement santé et les différentes alertes exprimées dans le monde entier.

Souligne que le bisphénol A encore ignoré il y a encore dix ans voire contestés sous la pression des lobbies a fini par être interdit suite à l'intervention d'André CICOLELLA au Sénat. L'épisode de l'interdiction des biberons au bisphénol A a été décisif d'où l'importance de bien renseigner les populations. De plus, elle a été possible rapidement, car elle ne touchait qu'une petite partie de la population. En dépit de l'opposition du ministère de la Santé d'alors, certains élus locaux avaient commencé à faire interdire les biberons au bisphénol Au sein de leur crèche communale, Monsieur BAPT allant jusqu'à passer un arrêté municipal pour interdire leur commercialisation. Il aura fallu que le Sénat, sur proposition de la commission santé, s'empare de la question qui a bénéficié d'un concours de circonstances salutaire puisque, peu avant le passage du texte à l'assemblée, un rapport de l'ANSES a alerté sur les dangers du bisphénol. C'est ainsi que le parlement a interdit le bisphénol A dans les biberons, interdiction bientôt élargie aux contenants alimentaires, mais la France est le seul pays européen à avoir imposé cette interdiction.

L'évolution générale au sein de la Commission européenne tend à prendre en compte les effets cocktail et les biotests. Lorsque la loi santé a été présentée au parlement, elle ne prévoyait aucune disposition sur la santé environnementale. Là encore ce sont les scientifiques et les lanceurs d'alerte qui ont mis en avant la notion d'exposome qui a été actée a posteriori par voie d'amendement parlementaire. Ceci prouve que les avancées

réglementaires doivent être « digérées » par les milieux administratifs et politiques d'où l'intérêt de colloques comme celui-ci.

Indique que trois groupes ont été constitués dans le cadre de la stratégie nationale de santé, l'un travaillant sur l'information/formation, le deuxième sur la recherche, le troisième sur la recherche et les règlements. Le financement dédié à la recherche sur la santé environnementale et les perturbateurs endocriniens après des années de vache maigre a été augmenté de deux millions d'euros, mais il serait préférable que les financements de la recherche s'organisent désormais au niveau européen. La question des perturbateurs endocriniens et des substances chimiques en général doit continuer à progresser au titre de l'espérance de vie en bonne santé.

Conclusion

Brune POIRSON

Secrétaire d'État auprès du Ministre de la transition écologique et solidaire, par vidéo



Assure que la question des perturbateurs endocriniens mobilise fortement le gouvernement depuis plusieurs mois et restera l'une de ses préoccupations majeures notamment par rapport à la préservation des ressources en eau et la prévention des risques sur sa consommation et de la santé environnementale. L'eau, source de la vie, embarque différents enjeux scientifiques, d'exposition de la population, d'expertise sanitaire, réglementaire, technologique, sanitaire et environnementale. La crédibilité des expertises et leur capacité à appuyer la décision publique dans un cadre réglementaire sont indispensables tant au niveau national qu'europpéen. Le travail est d'abord européen. La France a sans relâche insisté pour obtenir une définition des perturbateurs endocriniens au niveau européen et s'attache à peser de tout son poids pour garantir une plus grande indépendance de l'évaluation des risques par les agences européennes, en particulier sur les substances phytopharmaceutiques. Les récents débats autour des Monsanto papers, du bisphénol A, des perturbateurs endocriniens attestent qu'il est aujourd'hui nécessaire de réfléchir sereinement aux évolutions potentielles des réglementations européennes. Dans cette perspective, elle s'est rendue au siège de l'EFSA avec la ministre des affaires européenne. Face à ces défis majeurs, la mobilisation des citoyens que des colloques comme celui-ci permettent de susciter est plus nécessaire que jamais.

André CIOLELLA, Président du Réseau Environnement Santé, remercie les intervenants pour leur contribution à ce colloque, dont les Actes vont fournir la base pour répondre au vœu formulé par le rapport des Inspections générales de faire évoluer la réglementation en prenant en compte la spécificité des perturbateurs endocriniens. Les prochaines échéances, 2^{ème} phase de la Stratégie Nationale Perturbateurs Endocriniens, assises de l'eau seront l'occasion de les valoriser.

Colloque : "Perturbateurs Endocriniens, Eau et Santé"

RÉSEAU ENVIRONNEMENT SANTÉ



Document rédigé par la société Ubiquis – Tél : 01.44.14.15.16 – <http://www.ubiquis.fr> – infofrance@ubiquis.com

Poitiers, le 20 mars 2018