

Ecotoxicologie et Evaluation des risques réglementaire

Besoins et attentes de l'ANSES envers la recherche en écotoxicologie

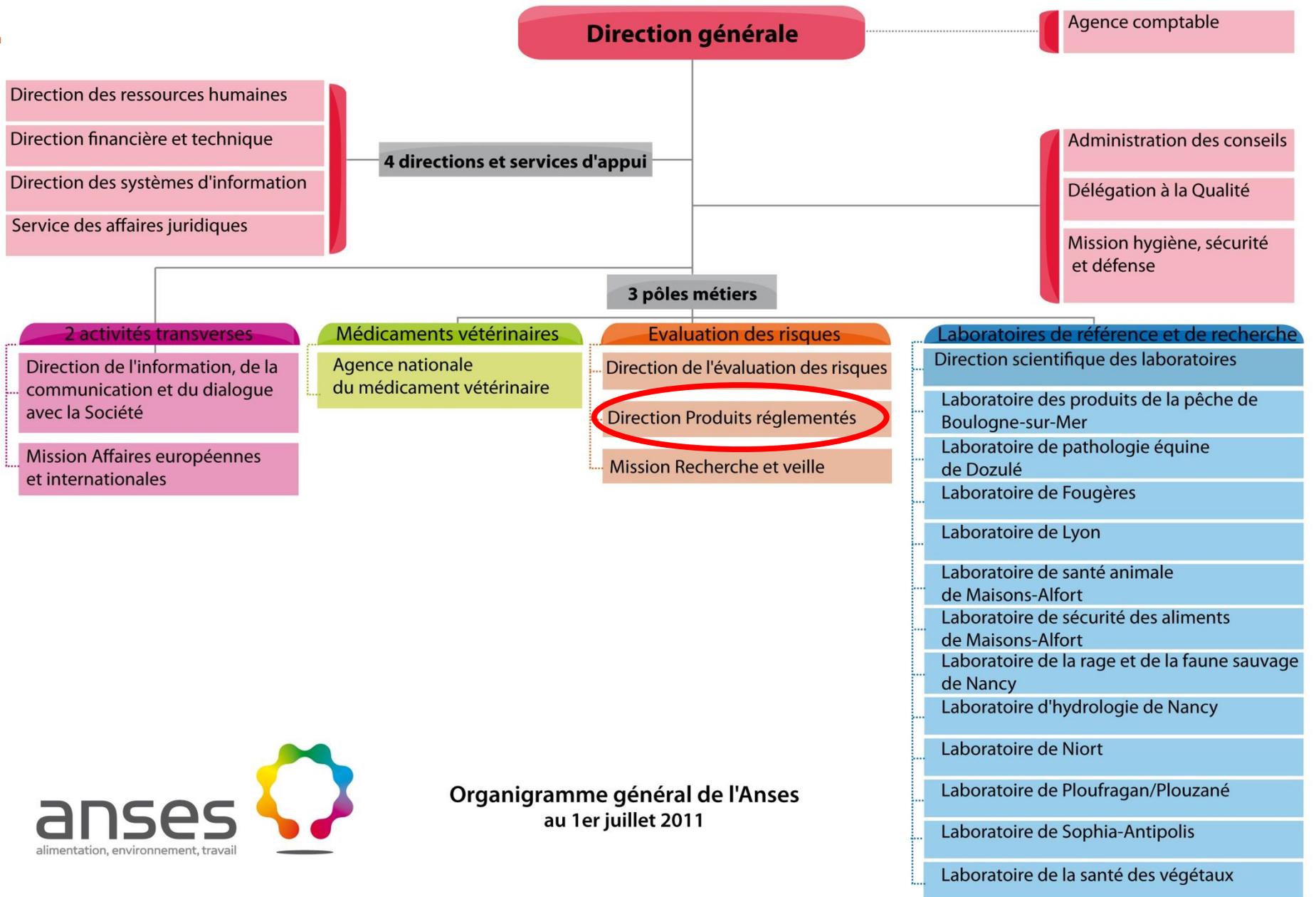
Véronique POULSEN

DPR - Direction des Produits Réglementés

Unité Evaluation Ecotoxicologie et Environnement des Intrants du Végétal

PLAN

- **ANSES – Direction des Produits Réglementés**
- **PRINCIPES DE L'ÉVALUATION DES RISQUES RÉGLEMENTAIRE**
- **PROBLÉMATIQUES ACTUELLES**
 - **PERTURBATEURS ENDOCRINIENS**
 - **NANOPARTICULES**
 - **NOUVEAUX DOCUMENTS GUIDES**
 - **NOUVEAUX REQUIS RÉGLEMENTAIRES**
- **CONCLUSION**



Direction des Produits Réglementés

- Evaluation des risques pour la santé et l'environnement des produits et substances dans le cadre des réglementations européennes:

– **Biocides** (Règlement 528/2012)

– **REACH** (Règlement 1907/2006)

– **Produits phytosanitaires**
(Règlement 1107/2009)

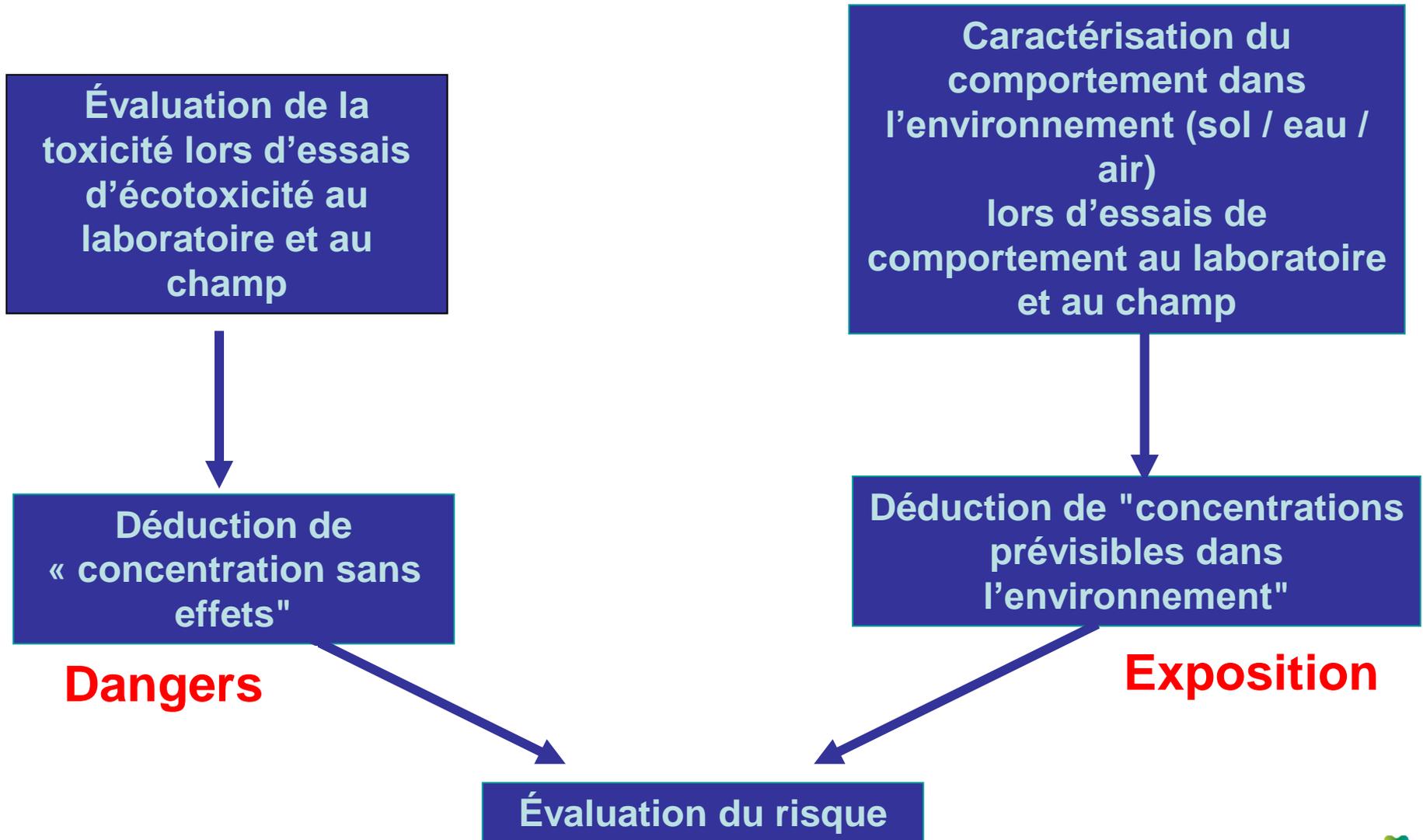
– **Matières fertilisantes** et
supports de cultures

Deux unités dédiées aux
risques environnementaux
et écotoxicologie

PLAN

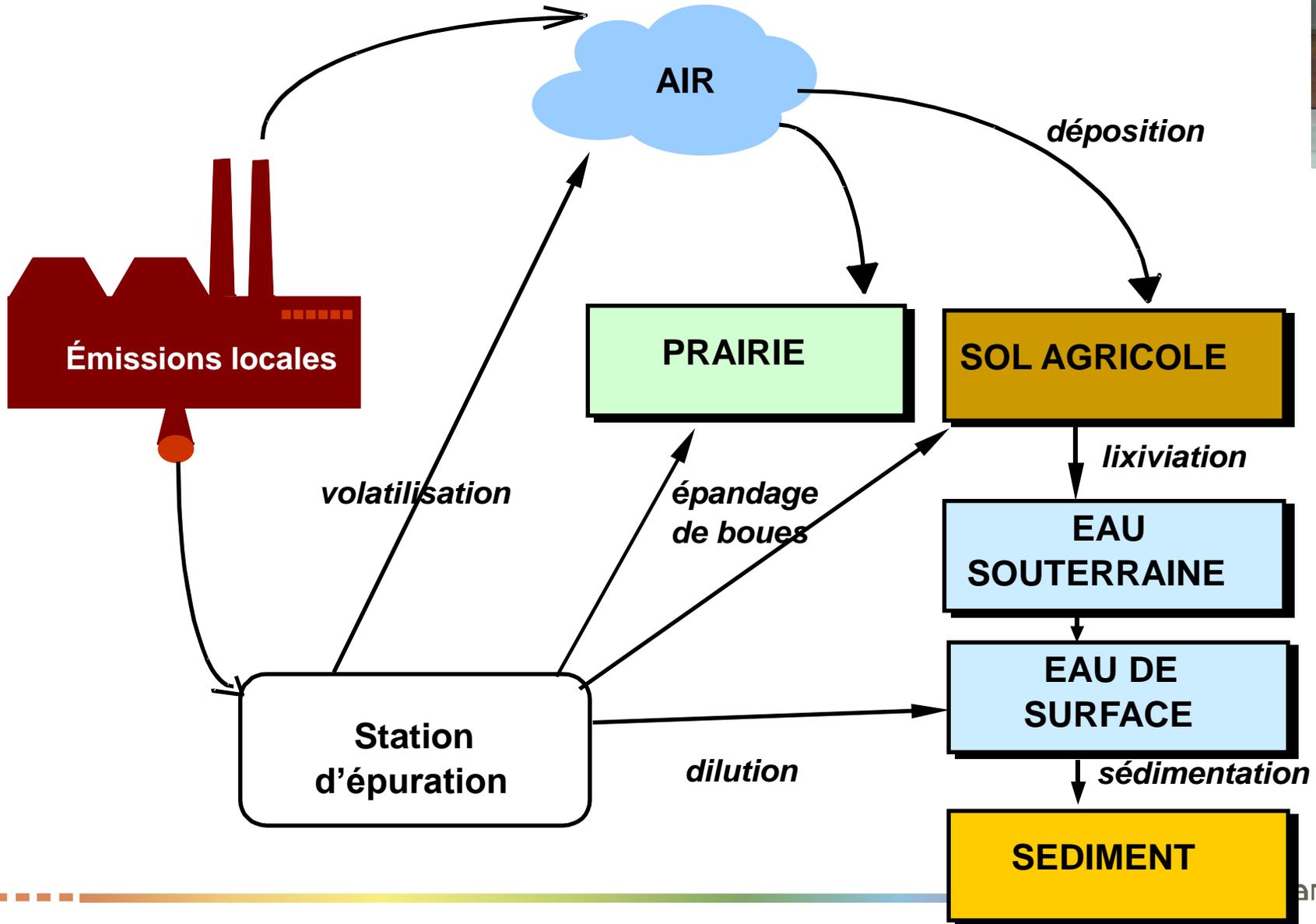
- ANSES – Direction des Produits Réglementés
- **PRINCIPES DE L’EVALUATION DES RISQUES REGLEMENTAIRE**
- PROBLEMATIQUES ACTUELLES
 - PERTURBATEURS ENDOCRINIENS
 - NANOPARTICULES
 - NOUVEAUX DOCUMENTS GUIDES
 - NOUVEAUX REQUIS REGLEMENTAIRES
- CONCLUSION

Deux composantes à l'évaluation des risques écotoxicologiques

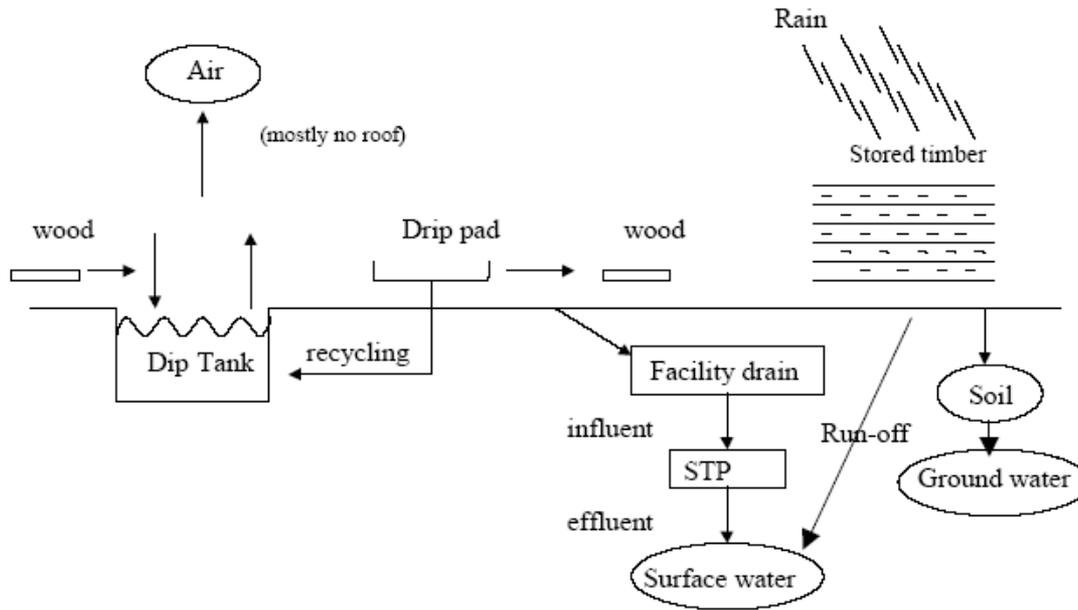


Exposition

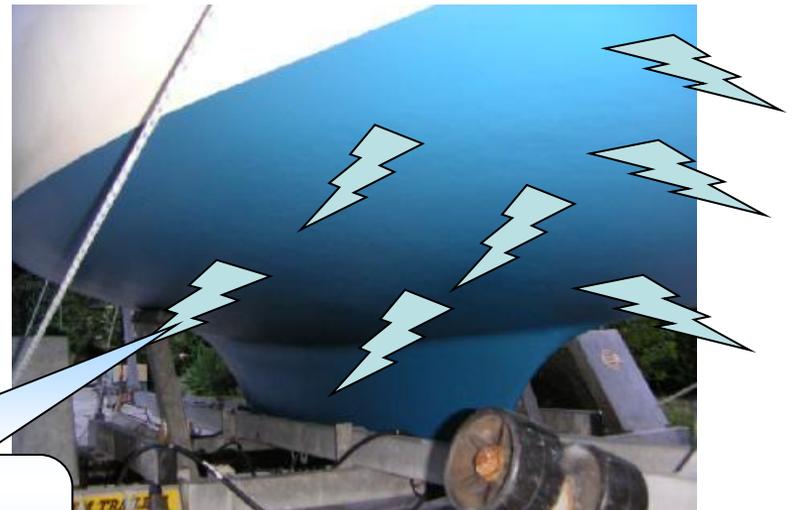
Produits chimiques



Produits de traitement du bois

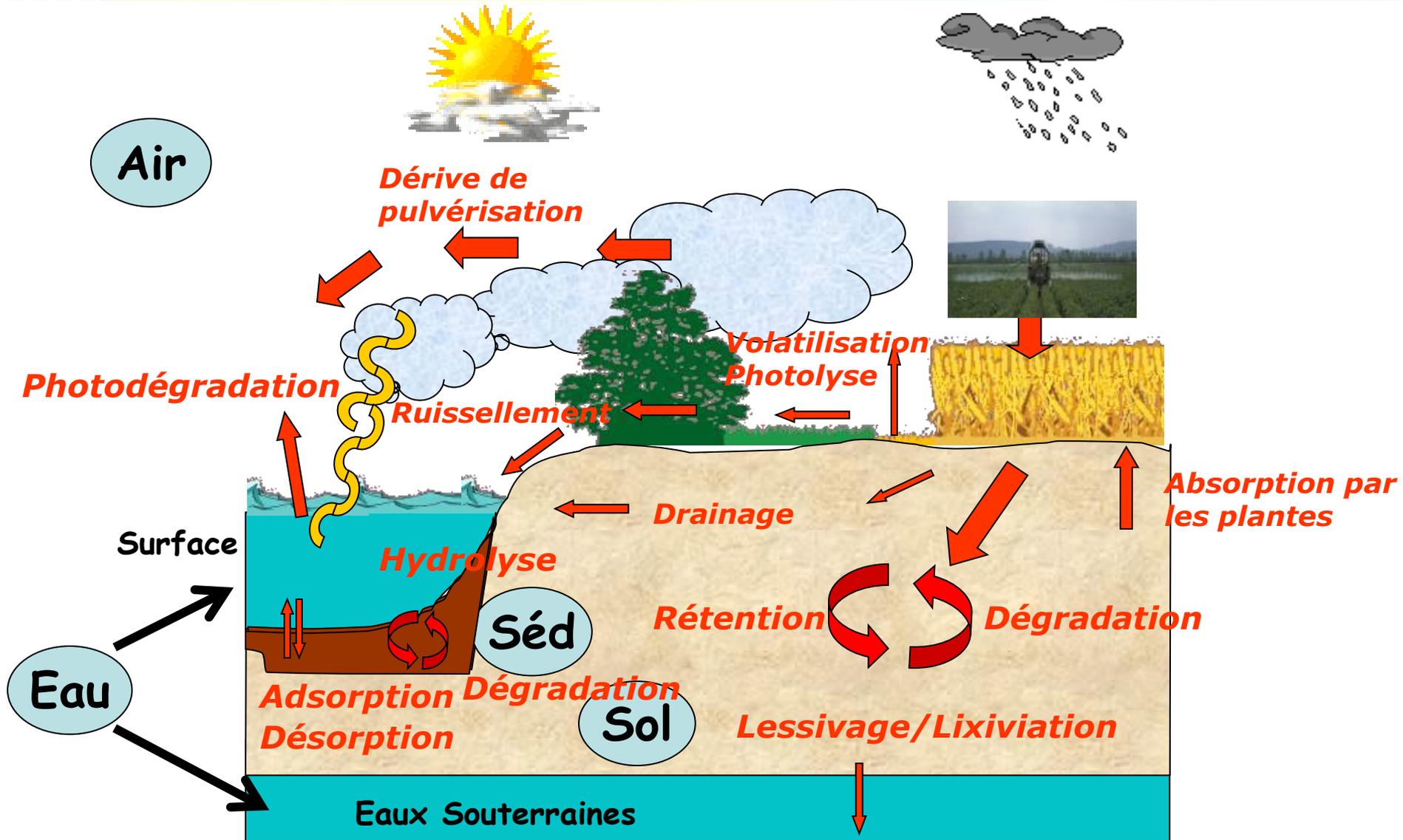


Produits antifouling



**Relargage de la
substance une fois
dans l'eau**

Pesticides



Ecotoxicité



© 2002 John
www.cauda

L'environnement

1. Vertébrés terrestres



- **Mammifères :**

- Données du dossier toxicologique sur **rat, souris, lapin**

- **Oiseaux :**

Colinus virginianus et *Anas platyrhynchos*

- Essai de toxicité aiguë par gavage (DL50)
- Essai de toxicité alimentaire (CL50), 8j
- Essai de toxicité pour la reproduction (20 semaines environ, intègre la croissance, NOEC sur tous les paramètres mesurés)
- Essai d'appétence (pour les préparations en granulés et les semences traitées, permet de quantifier l'évitement)
- Essai en cage
- Essai au champ



Colinus virginianus
Colin de virginie



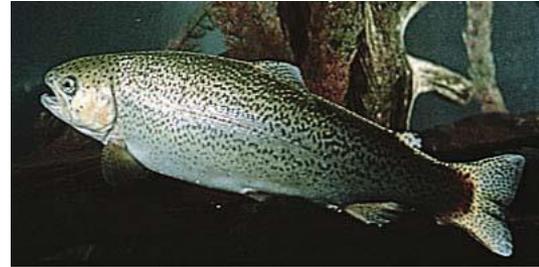
Anas platyrhynchos
Canard colvert

2. Organismes aquatiques : poissons



- ***Onchorhynchus mykiss* et *Lepomis macrochirus* :**

- Essais de toxicité aiguë (CL50 96h) en milieu statique (substances stables) ou renouvelé
- Effets sur la croissance des jeunes (28j en milieu renouvelé)
- Effets sur le développement (90j)
- Effets sur le cycle complet



Onchorhynchus mykiss
Truite arc-en-ciel



Lepomis macrochirus
Crapet arlequin

- **Bioaccumulation (ex: *P. promelas*) :**

- Essai de bioaccumulation et de métabolisme, dès qu'un potentiel de bioaccumulation est identifié ($\log P \geq 3$)



Pimephales promelas
Vairon à grosse tête

2. Organismes aquatiques : invertébrés



- **Invertébrés de la colonne d'eau :**
 - Essai de toxicité aiguë (immobilisation, EC50 48h)
 - Essai de toxicité pour la reproduction (NOEC 21j)



Daphnia magna



Asellus aquaticus

- **Organismes du sédiment :**
 - Essai de toxicité aiguë (immobilisation, EC50 48h)
 - Essai de toxicité pour le développement (NOEC 28j)



Americamysis bahia

- Si la substance se répartit dans le sédiment, exposition via la colonne d'eau ou le sédiment



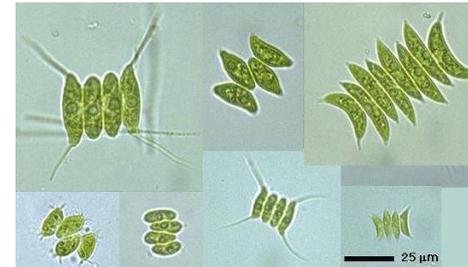
Chironomus riparius

2. Organismes aquatiques : végétaux

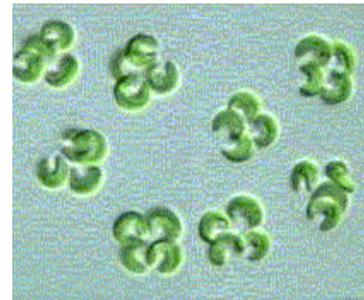


• Algues

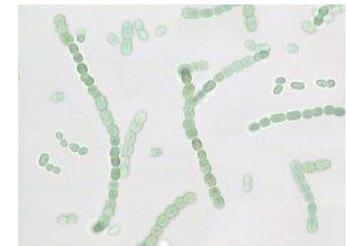
- Essai sur la croissance (EC50 biomasse et croissance) en milieu statique (72 h)



Scenedesmus spp.



Pseudokirchneriella subcapitata



Anabaena flos aquae

• Plantes supérieures

- Essai sur la croissance 7-14j (EC50 croissance, biomasse, nombre de frondes) en milieu statique

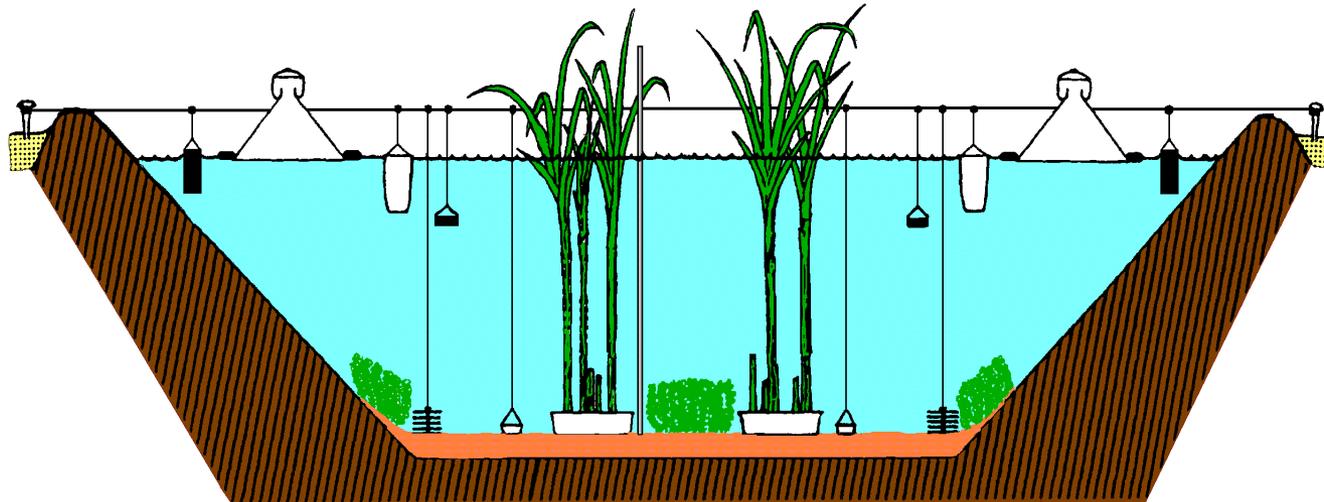


Lemna gibba

2. Milieux aquatiques : études sur des écosystèmes entiers



- lorsqu'un risque est identifié par l'évaluation sur la base des études de laboratoire,
- lorsqu'une bioaccumulation est possible
- lorsqu'il est nécessaire de s'interroger sur les possibles effets indirects
- lorsqu'il est nécessaire de tenir compte de la répartition de la substance dans l'environnement



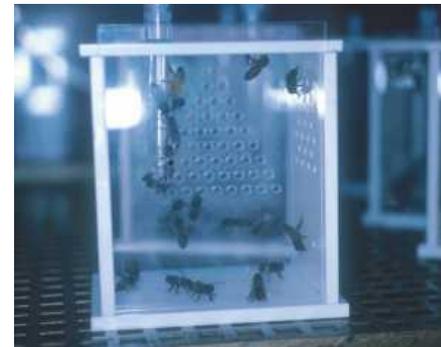
3. Invertébrés terrestres : les polinisateurs



- Essai de toxicité aiguë par voie orale et par contact (DL50 48h)
- Essai de toxicité prolongée (DL50 10j)
- Essai de toxicité pour les larves
- Essai en cage
- Essai en tunnel
- Essai au champ



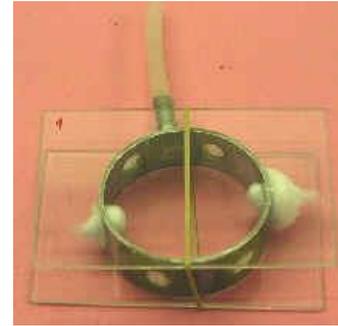
Apis mellifera



3. Invertébrés terrestres : les autres arthropodes



- Au laboratoire sur support artificiel: survie + fertilité ou prédation
- Au laboratoire sur support naturel: idem
- Au laboratoire sur résidus vieillis (la ou les espèces les plus sensibles): idem
- Au champ



4. Les organismes du sol : macro-organismes



- Essai de toxicité aiguë (14 j)
- Essai de toxicité pour la reproduction (NOEC 56j)
- **Si risque identifié :**
 - effets sur les populations de macroinvertébrés endogés
 - essai au champ
- **Si substance persistante:** essai de toxicité aiguë (14j) et pour la reproduction (56j) de *Folsomia candida* ou *Hypoaspis aculeifer*



Eisenia fetida



Folsomia candida



Lumbricus terrestris

4. Les organismes du sol : micro-organismes



*Essai de
laboratoire*



*Essai en sac à
litière*

- Mesure de la minéralisation de l'azote et du carbone dans des sols traités (laboratoire)
- Si un risque est identifié ou si la substance est persistante :
 - essai au champ de la dégradation de la matière organique contenue dans des sacs à litière, enfouis sous la surface d'un sol traité

5. Les plantes terrestres

- Essai d'inhibition de l'émergence
- Essai d'inhibition de la vigueur végétative
- Monocotylédones et dicotylédones
- Une dizaine d'espèces
- Cultivées et non cultivées



6. Les procédés de traitement des eaux usées



- Boues activées: en cas de possible contamination du circuit des eaux usées
- Essai d'inhibition de la respiration d'une boue activée
- Essai d'inhibition de la dégradation d'une substance
- Essai d'inhibition de croissance de *Pseudomonas putida*



PLAN

- ANSES – Direction des Produits Réglementés
- PRINCIPES DE L'ÉVALUATION DES RISQUES RÉGLEMENTAIRE
- **PROBLÉMATIQUES ACTUELLES**
 - **PERTURBATEURS ENDOCRINIENS**
 - NANOPARTICULES
 - NOUVEAUX DOCUMENTS GUIDES
 - NOUVEAUX REQUIS RÉGLEMENTAIRES
- CONCLUSION

Perturbateurs endocriniens

- Documents de référence
 - Rapport OMS 2002 : état des connaissances.
 - Rapport Kortenkampf : 23/12/2011 état des connaissances
 - Travaux OCDE « EDTA » : stratégie d'essais
- **Consensus sur les définitions établies par OMS/IPCS :**
 - *Un **perturbateur endocrinien** est une substance ou un mélange exogène, **altérant** les fonctions de l'appareil endocrinien et induisant donc des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou au sein de (sous-)populations.*
 - *Un **perturbateur endocrinien potentiel** est une substance ou un mélange exogène, possédant des propriétés **susceptibles d'induire** une perturbation endocrinienne dans un organisme intact, chez ses descendants ou au sein de (sous-)populations.*
- **Aucun accord européen sur la spécification des critères scientifiques pour la détermination des propriétés PE**

Conséquences réglementaires

- **Phytoprotecteurs (Reg 1107/2009)**

- Substances **non approuvées** si propriétés perturbatrices endocriniennes pour la santé ou les organismes non-cibles.
 - Sauf si l'exposition est négligeable dans les conditions d'utilisation

- **REACH (Reg 1907/2006)**

- Peuvent être **inscrites** à l'annexe XIV = soumise à autorisation (voie **socio-économique**)

- **Biocide (Reg 528/2012)**

- Substances **non approuvées** si possédant des propriétés perturbant le système endocrinien (article 57 f de REACH)
 - sauf si :
 - risque négligeable,
 - substance indispensable pour combattre un risque sanitaire grave,
 - Impacts négatifs disproportionnés pour la société par rapport aux risques

Problématique actuelle : perturbateurs endocriniens

- **Aucun accord européen sur l'identification du caractère PE**
- **Travaux de l'OCDE:**
 - **Document guide sur la méthodologie de tests existants <http://www.oecd.org/env/testguidelines>**
 - **Revised Conceptual Framework for EDTA (2012)**

Perturbateurs endocriniens

Mammalian and Non-Mammalian Toxicology

<p>Level 1 Existing Data and Non-Test Information</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Physical & chemical properties, e.g., MW reactivity, volatility, biodegradability • All available (eco)toxicological data from standardized or non-standardized tests. • Read across, chemical categories, QSARs and other in silico predictions, and ADME model predictions 	
<p>Level 2 In vitro assays providing data about selected endocrine mechanism(s) / pathway(s)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Estrogen or androgen receptor binding affinity • Estrogen receptor transcriptional activation (OECD TG 455) • Androgen or thyroid transcriptional activation (if/when TGs are available) • Steroidogenesis in vitro (OECD TG 456) • MCF-7 cell proliferation assays (ER ant/agonist) • Other assays as appropriate 	
	<p>Mammalian Toxicology</p>	<p>Non-Mammalian Toxicology</p>
<p>Level 3 In vivo assays providing data about selected endocrine mechanism(s) / pathway(s)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Uterotrophic assay (OECD TG 440) • Hershberger assay (OECD TG 441) 	<ul style="list-style-type: none"> • Xenopus embryo thyroid signalling assay (if/when TG is available) • Amphibian metamorphosis assay (OECD TG 231) • Fish Reproductive Screening Assay (OECD TG 229) • Fish Screening Assay (OECD TG 230) • Androgenized female stickleback screen (GD 140)

Perturbateurs endocriniens

Mammalian and Non-Mammalian Toxicology

	Mammalian Toxicology	Non-Mammalian Toxicology
Level 4 In vivo assays providing data on adverse effects on endocrine relevant endpoints	<ul style="list-style-type: none"> • Repeated dose 28-day study (OECD TG 407) • Repeated dose 90-day study (OECD TG 408) • 1-generation assay (OECD TG 415) • Male pubertal assay (see GD 150) • Female pubertal assay (see GD 150) • Intact adult male endocrine screening assay (see GD 150) • Prenatal developmental toxicity study (OECD TG 414) • Chronic toxicity & carcinogenicity studies (OECD TG 451-3) • Reproductive screening test (OECD TG 421 if enhanced) • Combined 28-day/reproductive screening assay (OECD TG 422 if enhanced) • Developmental neurotoxicity (TG 426) 	<ul style="list-style-type: none"> • Avian Reproduction Test (TG 206) • Fish Sexual Development Test (TG 234) • Fish Reproduction Partial Lifecycle Test (when/If TG is Available) • Larval Amphibian Growth & Development Test (when TG is available) • Mollusc Reproduction Test (TG at pre-validation stage) • Chironomid Toxicity Test (TG 218-219)

Perturbateurs endocriniens

Mammalian and Non-Mammalian Toxicology

	Mammalian Toxicology	Non-Mammalian Toxicology
<p>Level 5 In vivo assays providing more comprehensive data on adverse effects on endocrine relevant endpoints over more extensive parts of the life cycle of the organism²</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Extended one-generation reproductive Toxicity Study (OECD TG 443) • Two-Generation assay (OECD TG 416 most recent update) 	<ul style="list-style-type: none"> • Fish Life Cycle Toxicity Test) (when TG is available) • Medaka Multigeneration Test (MMGT) (when TG is available) • Avian 2 generation reproductive toxicity assay (when TG is available) • Mysid Life Cycle Toxicity Test (when TG is available) • Copepod Reproduction and Development Test (when TG is available) • Sediment Water Chironomid Life Cycle Toxicity Test (TG 233) • Mollusc Full Lifecycle Assays (when TG is available) • Daphnia Reproduction Test (with male induction) (OECD TG 211) • Daphnia Multigeneration Assay (if TG is available)

2011 OECD Revised Conceptual Framework for Testing and Assessment of Endocrine Disrupters (2 of 3)

Perturbateurs endocriniens

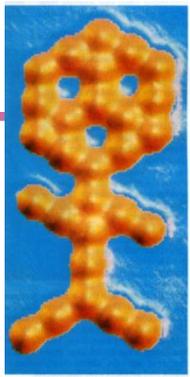
- **Comment évaluer les effets pour certains organismes?**
- **Comment évaluer les effets sur les populations?**
- **Comment évaluer le risque?**

- **Besoin d'une méthodologie validée**
- **Besoin d'essais robustes et pertinents**
- **Nécessité d'avoir un arbre de décision**
- **Consensus au niveau européen nécessaire**

PLAN

- ANSES – Direction des Produits Réglementés
- PRINCIPES DE L'ÉVALUATION DES RISQUES RÉGLEMENTAIRE
- **PROBLÉMATIQUES ACTUELLES**
 - PERTURBATEURS ENDOCRINIENS
 - **NANOPARTICULES**
 - NOUVEAUX DOCUMENTS GUIDES
 - NOUVEAUX REQUIS RÉGLEMENTAIRES
- CONCLUSION

Nanoparticules



MOLECULAR MAN :
He's been crafted from
units of carbon monoxide

Définition : Recommandation de la Commission européenne 2011/696/EU

- « On entend par «nanomatériau» un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50 % des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm.

Nanoparticules

- État des connaissances scientifiques
 - 89 publications en 2007
 - Environ 800 publications en 2010
- Les méthodes d'essais actuelles sont-elles valables?
 - Répétabilité des études?
 - Interprétation des résultats?
 - Rapport concentrations / effets
 - Difficulté de dériver des EC50 ou des NOEC
- Toxicité dépend de la forme
 - Importance de la caractérisation
- La méthodologie d'évaluation actuelle est-elle acceptable?
- 1er dossier français dans le cadre de REACh sera évalué en 2015 : dioxyde de titane

 **accumuler des données fondamentales, mettre au point des protocoles de bio-essai**

PLAN

- ANSES – Direction des Produits Réglementés
- PRINCIPES DE L'ÉVALUATION DES RISQUES RÉGLEMENTAIRE
- **PROBLÉMATIQUES ACTUELLES**
 - PERTURBATEURS ENDOCRINIENS
 - NANOPARTICULES
 - **NOUVEAUX DOCUMENTS GUIDES**
 - **NOUVEAUX REQUIS RÉGLEMENTAIRES**
- CONCLUSION

Nouveaux documents guides

- Ex: Guide Efsa pour l'évaluation des risques des produits phytosanitaires pour les abeilles
 - Abeilles domestiques
 - Bourdons
 - Abeilles solitaires



👉 Développer des essais au labo et au champ sur les effets à long terme

Nouveaux documents guides

- Ex: Guide Echa/Biocides pour l'évaluation de la toxicité des mélanges pour l'environnement
 - Études sur les mélanges non requis en biocides
 - Prise en compte substance active + substances préoccupantes
 - Stratégie par tiers (synergie, additivité puis affinement possible par espèce en fonction de leur sensibilité)

 **Acquisition de données sur synergie**

Nouveaux requis

- Règlement **(EU) 283/2013** : données requises pour l'évaluation des substances phytosanitaires:
- Effets sur les vertébrés: Inclure les données disponibles (y compris celles de la littérature) relatives aux effets sur les oiseaux, mammifères, reptiles et amphibiens

👉 **Acquisition de données de toxicité sur les reptiles et amphibiens**

👉 **Acquisition de données sur l'exposition de ces organismes dans les zones agricoles**

PLAN

- ANSES – Direction des Produits Réglementés
- PRINCIPES DE L'ÉVALUATION DES RISQUES RÉGLEMENTAIRE
- **PROBLÉMATIQUES ACTUELLES**
 - PERTURBATEURS ENDOCRINIENS
 - NANOPARTICULES
 - NOUVEAUX DOCUMENTS GUIDES
 - NOUVEAUX REQUIS RÉGLEMENTAIRES
- **CONCLUSION**

Conclusion

- Ecotoxicologie et évaluation des risques en constante évolution :
 - Sur la base de l'évolution des connaissances
 - Sur la base de nouvelles problématiques
 - Sur la base de l'augmentation des préoccupations environnementales
- Besoins d'acquisition de données
- Besoin de développement de méthodes d'essai