

# **Ecotoxicologie et Evaluation des risques réglementaire**

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

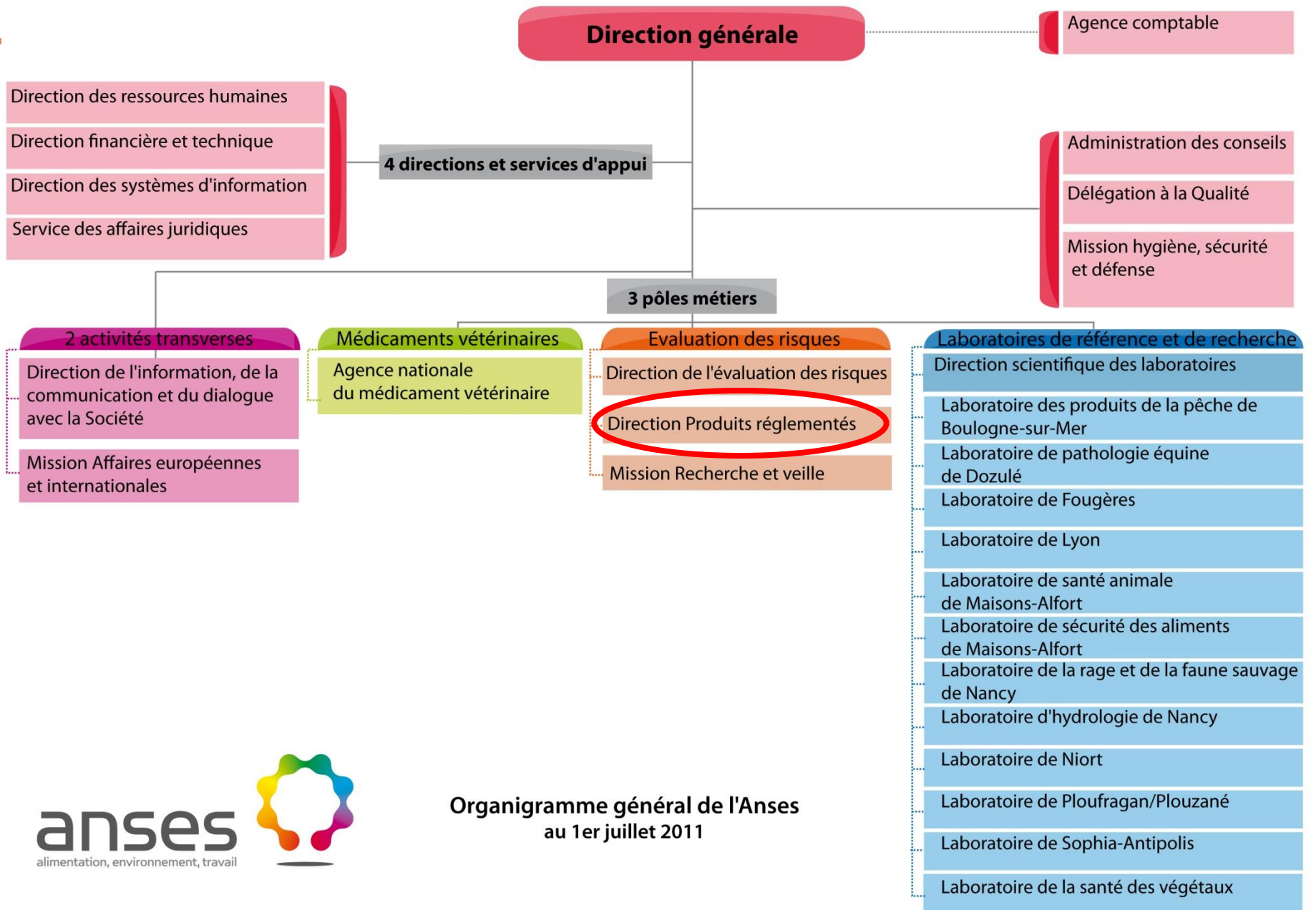
**Véronique POULSEN**

*DPR - Direction des Produits Réglementés*

*Unité Evaluation Ecotoxicologie et Environnement des Intrants du Végétal*

# PLAN

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

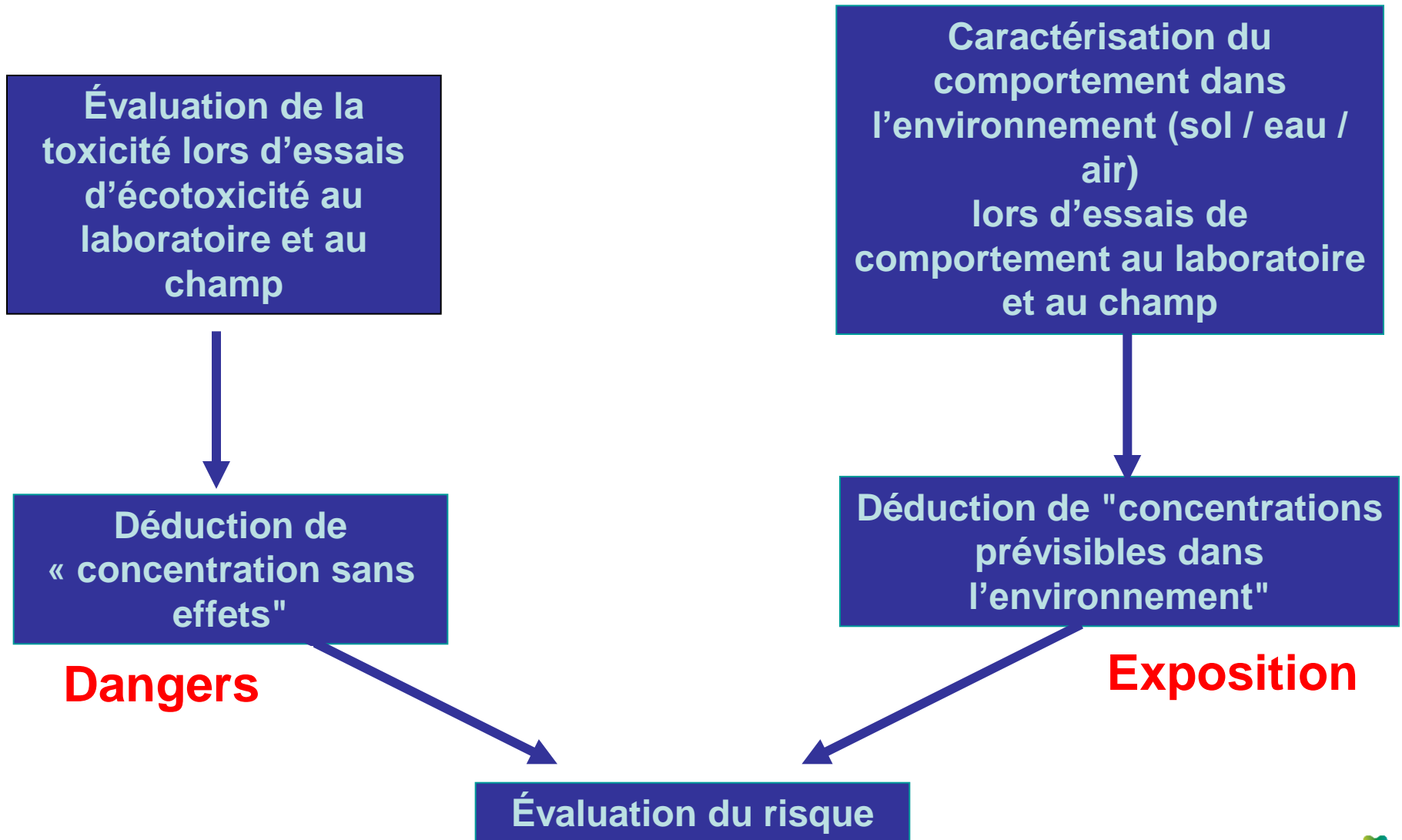
– **Matières fertilisantes** et  
supports de cultures

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

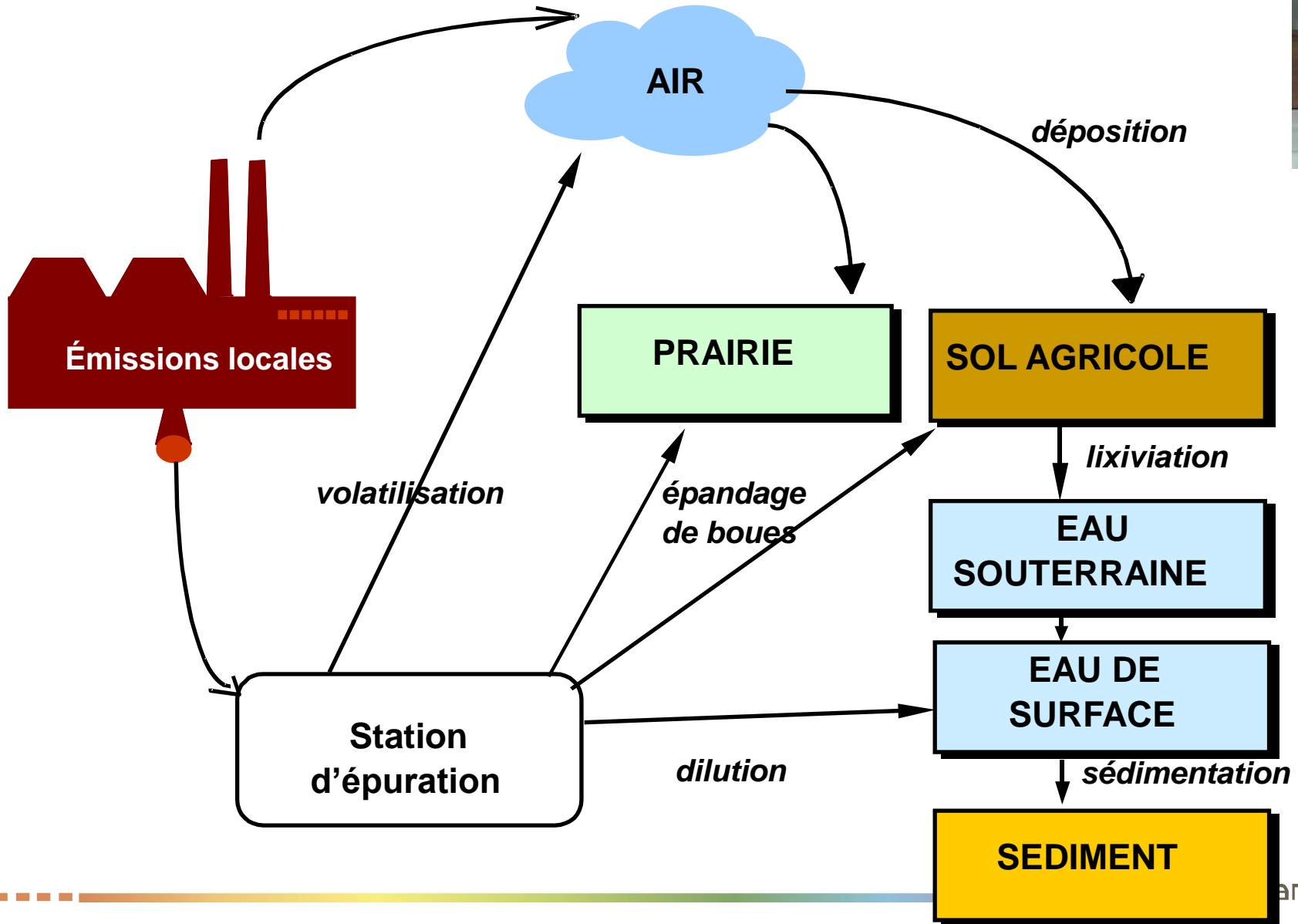
# Deux composantes à l'évaluation des risques écotoxicologiques



---

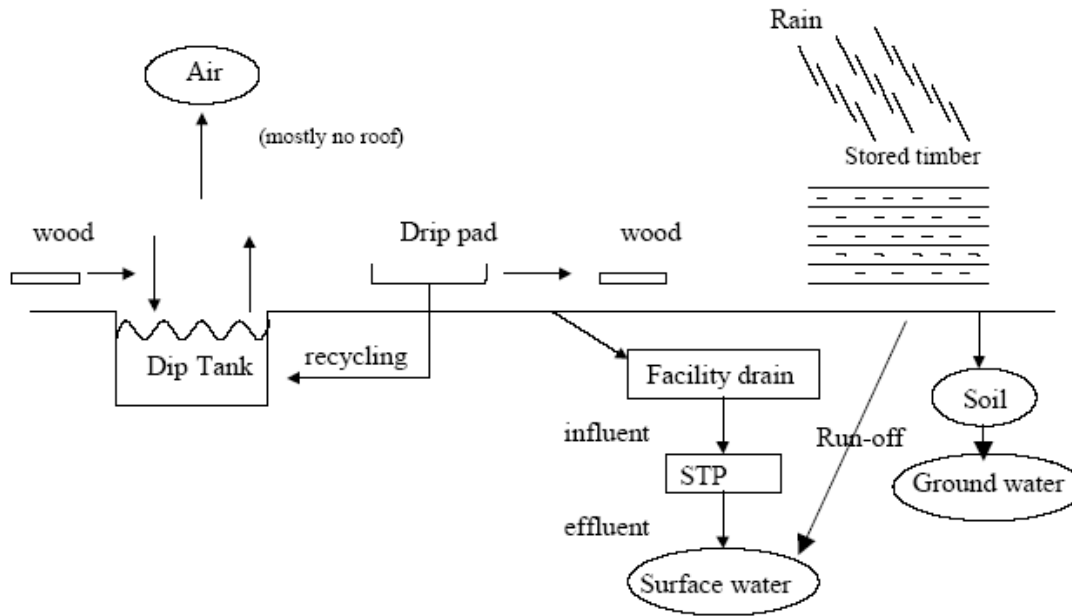
# Exposition

# Produits chimiques

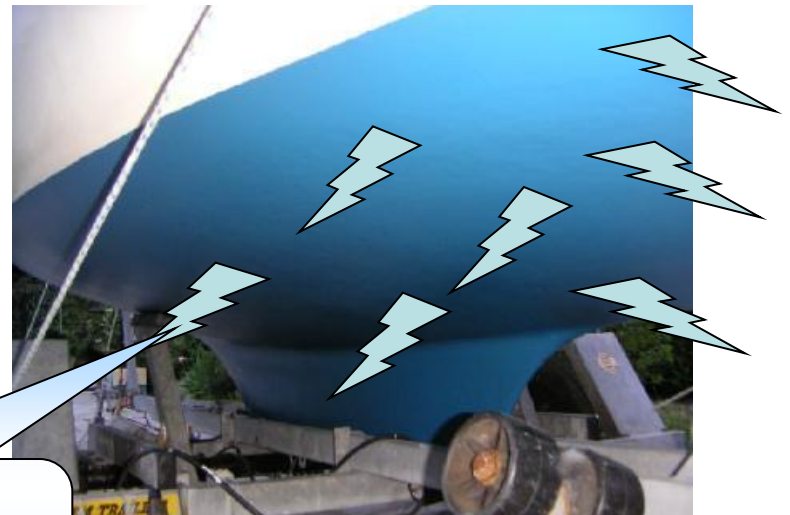




# Produits de traitement du bois

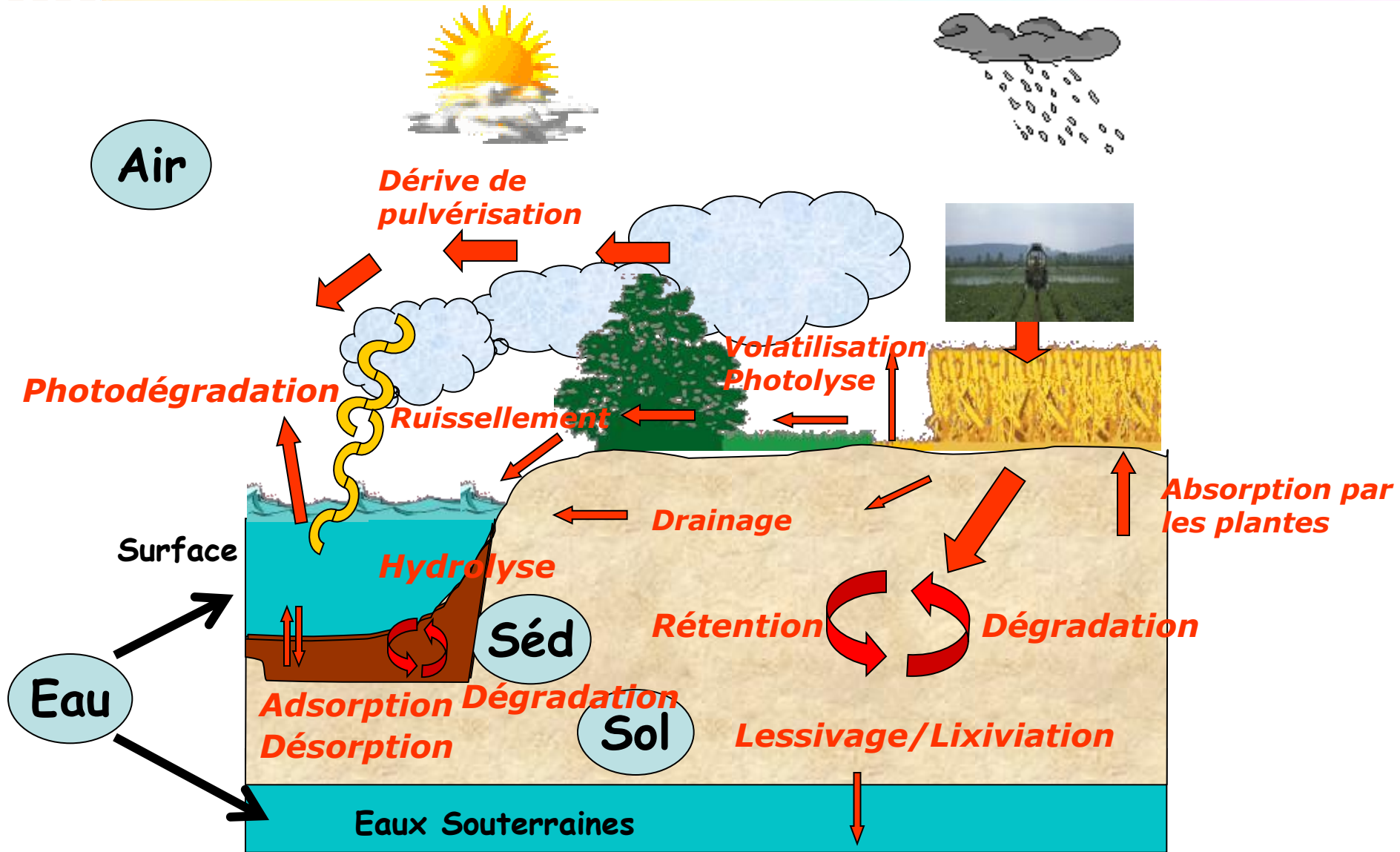


# Produits antifouling



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

# Pesticides



---

# Ecotoxicité





# L'environnement

© 2002 John  
www.cauda



# 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

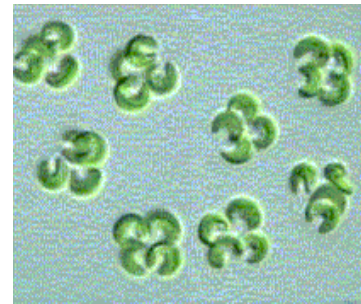


- **Algues**

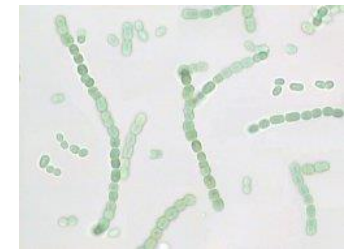
- Essai sur la croissance (EC50 biomasse et croissance) en milieu statique (72 h)



*Scenedesmus* spp.



*Pseudokirchneriella subcapitata*



*Anabaena flos aquae*

- **Plantes supérieures**

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

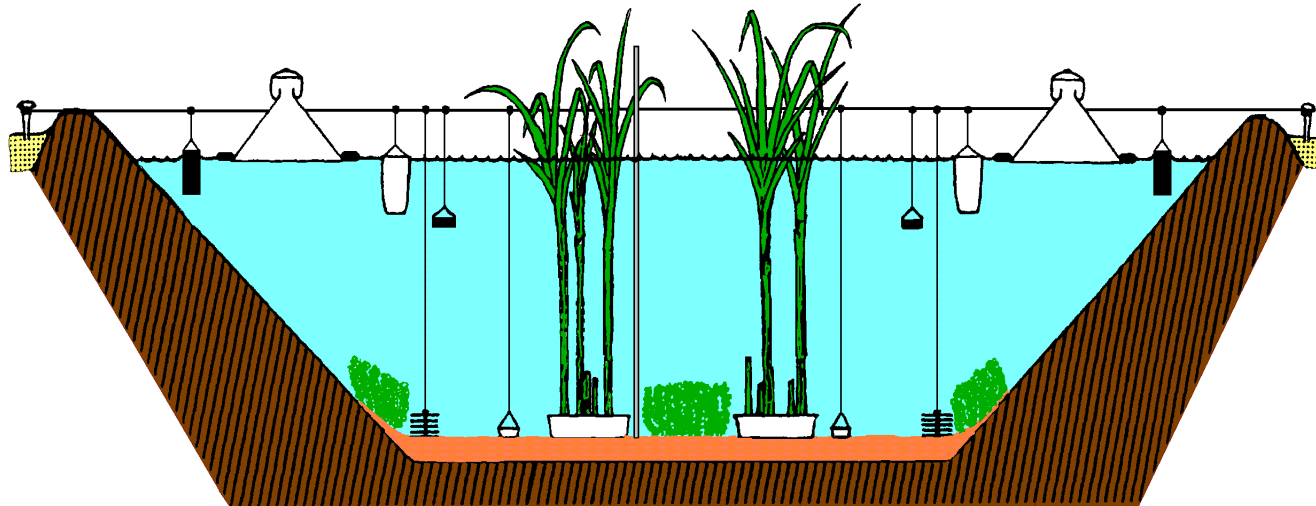


*Lemna gibba*

## 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



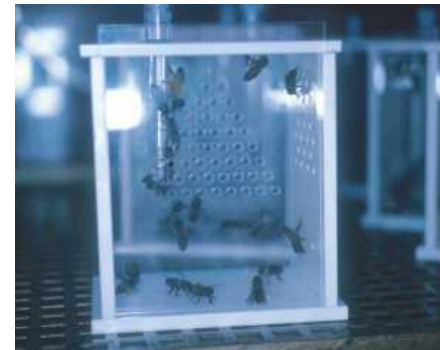
# 3. Invertébrés terrestres : les polinisateurs



- 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



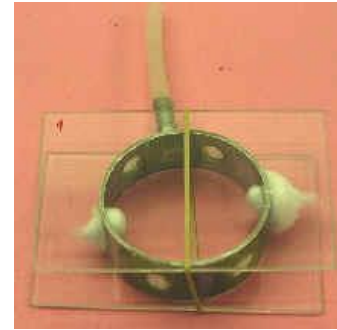
*Apis mellifera*



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

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

# 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 organism<sup>2</sup></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extended one-generation reproductive Toxicity Study (OECD TG 443)</li> <li>• Two-Generation assay (OECD TG 416 most recent update)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fish Life Cycle Toxicity Test (when TG is available)</li> <li>• Medaka Multigeneration Test (MMGT) (when TG is available)</li> <li>• Avian 2 generation reproductive toxicity assay (when TG is available)</li> <li>• Mysid Life Cycle Toxicity Test (when TG is available)</li> <li>• Copepod Reproduction and Development Test (when TG is available)</li> <li>• Sediment Water Chironomid Life Cycle Toxicity Test (TG 233)</li> <li>• Mollusc Full Lifecycle Assays (when TG is available)</li> <li>• Daphnia Reproduction Test (with male induction) (OECD TG 211)</li> <li>• Daphnia Multigeneration Assay (if TG is available)</li> </ul>

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?**

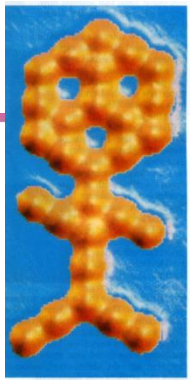
- **Besoin d'une méthodologie validée**
- **Besoin d'essais robustes et pertinents**
- **Nécessité d'avoir un arbre de décision**
- **Consensus au niveau européen nécessaire**



# 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

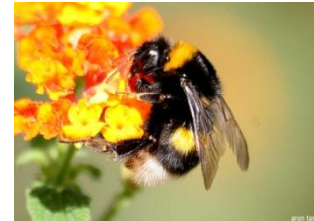
 **accumuler des données fondamentales, mettre au point des protocoles de bio-essai**

# 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