



PLATEFORME PUBLIC-PRIVÉ SUR LA
PRÉ-VALIDATION DES MÉTHODES D'ESSAI SUR
LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

NEWSLETTER Juillet 2021

Lancement des essais de pré-validation : la première année de PEPPER.

La pré-validation des méthodes d'essai **LC-MS/MS based profiling of the H295R steroidogenesis assay et h-Placentox**, a démarré avec deux « kick off » les 14 et 16 Avril 2021.

PEPPER a contracté en mars 2021 avec **RI.SE** (laboratoire leader), **Anses**, **BASF**, et l'université **VRIJE** pour réaliser les essais de pré-validation de la méthode **LC-MS/MS based profiling of the H295R steroidogenesis assay**, d'après une publication de **Ralf KELLMANN**. La première réunion inter-laboratoires a eu lieu début avril pour lancer la phase de transférabilité. Les laboratoires ont commencé les cultures cellulaires et ont été informés des substances à tester pour cette phase.



Pour les essais de pré-validation de la méthode **h-Placentox** développée par **Patrice RAT** (*Laboratoire C-TAC/ Chimie-Toxicologie Analytique et Cellulaire*), PEPPER a signé des contrats en mars 2021 avec le **CNRS** (laboratoire développeur), l'**Anses** et **Eurofins**. **RI.SE** s'est porté volontaire pour apporter une aide technique. La première réunion inter-laboratoires s'est déroulée début avril 2021 pour préparer le lancement de la phase de transférabilité. Les substances à tester pour cette phase étant précisées en juin avec l'aide du VMG (Validation Management Group).



La pré-validation de la méthode **ZOT** (poisson zèbre, obésité), développée par **Patrick BABIN** (*Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme MRGM à l'Université de Bordeaux*), a été suspendue pour cette année, à cause de points techniques soulignés par le VMG, qui doivent être étudiés avant de se lancer dans le processus de pré-validation de la méthode, et discutés avec des instances de l'OCDE. PEPPER reste à disposition du développeur dans ses démarches pour représenter la méthode.

La prochaine méthode qui entre donc dans le processus de pré-validation de cette année est la méthode **GR TA (Glucocorticoid Receptor TransActivation)** de **Patrick BALAGUER**. Actuellement, PEPPER recherche les laboratoires partenaires pour réaliser les essais de pré-validation de cette méthode et échange avec le développeur pour avoir des données historiques, les coûts de la méthode et une SOP déjà bien avancée pour pouvoir lancer au plus vite la phase de transférabilité.

Information de la présence de PE dans les produits : La loi AGECE.

La loi AGECE, loi n°2020-105 du 10 février 2020 relative à la lutte contre le gaspillage et à l'économie circulaire, vise la réduction des plastiques à usage unique, l'allongement de la durée de vie des produits, la préservation des ressources et l'augmentation du recyclage.



Elle prévoit d'informer les consommateurs sur les matières utilisées, domaine où la loi est novatrice vis-à-vis des PE. Une disposition (article 13 II) cible en effet les produits comportant des substances dont l'Anses qualifie les propriétés de perturbation endocrinienne comme « avérées » ou « présumées » et aussi, pour certaines catégories de produit, comme « suspectées ».

Les fabricants devront informer les consommateurs par une mise en ligne sur internet, en accès totalement public et libre de droit (open data). Un décret est actuellement en cours d'examen par le Conseil d'Etat. La démarche ne préjuge pas d'autres dispositions d'information spécifiquement applicables aux femmes enceintes (article 14) et dont les modalités d'application sont étudiées.

Priorisation pour l'évaluation des PE et méthodes d'expertise pour les classer : avancées de l'Anses.



Le 15 avril 2021, une réunion avec ses Comités d'Orientation Thématiques, ainsi que des partenaires de la SNPE2 (Stratégie Nationale sur les Perturbateurs Endocriniens) a été montée par l'Anses sur les perturbateurs endocriniens. L'agence y a indiqué les priorités pour son programme d'évaluation et les règles d'expertise à appliquer pour classer les PE en fonction du niveau

d'information disponible.

La liste des « substances d'intérêt » relativement à de possibles propriétés PE et une hiérarchisation pour effectuer les travaux d'évaluation a fait l'objet d'un premier avis¹. Après avoir analysé de nombreuses listes internationales (27 « initiatives »), l'Agence a centré son travail sur la méthode et la base de données DEDuCT (Database of Endocrine Disrupting Chemicals and their Toxicity)², de l'Institut des sciences mathématiques de Chennai en Inde. En ajoutant aux 686 substances issues de DEDuCT les substances identifiées par ses travaux et l'étude d'impact de la commission Européenne, l'Anses aboutit à une liste de **906 substances d'intérêt**. La hiérarchisation a conduit à identifier **16 substances prioritaires** à l'évaluation (cf p.48 et 49 du rapport).

Un autre avis³ concerne la méthode d'expertise, décrivant comment **établir le poids des preuves scientifiques** et **éliciter les avis des experts** pour déterminer si une substance est un perturbateur endocrinien et la classer comme **avérée, présumée** ou **suspectée**.

¹ <https://www.anses.fr/fr/system/files/REACH2019SA0179Ra-1.pdf>

² <https://cb.imsc.res.in/deduct/download>

³ <https://www.anses.fr/fr/system/files/REACH2019SA0179Ra.pdf>

L'échéance de 2022 pour la mise en place de classes de danger pour les perturbateurs endocriniens : les travaux européens.

Le 15 mars 2021, le Conseil de l'Union européenne a adopté des conclusions sur la stratégie pour la durabilité dans le domaine des produits chimiques, fixant des objectifs à la Commission européenne s'agissant notamment des perturbateurs endocriniens.

Les discussions ont ainsi commencé avec les autorités compétentes des Etats-membres pour les règlements REACH et CLP, les parties prenantes et la Commission européenne, sur la base d'un projet de texte proposé par cette dernière. L'objectif est d'introduire une classe de danger pour les perturbateurs endocriniens dans le règlement européen (CE) n° 1272/2008 relatif au « **règlement CLP** » (classification, étiquetage et emballage des substances chimiques et des mélanges).

Le projet de la Commission, qui a été discuté, prévoit deux catégories pour la classe PE :

- Catégorie 1: Perturbateurs endocriniens avérés ou présumés
- Catégorie 2: Perturbateurs endocriniens suspectés

Il distingue les perturbateurs endocriniens pour la santé humaine et pour l'environnement.



Ce projet est susceptible d'évoluer au gré des discussions avec les Etats membres et les parties prenantes, après quoi la Commission européenne soumettra une nouvelle proposition à la consultation officielle des Etats membres, mais le lancement des discussions est une avancée en soi.

La **Commission se fixe l'objectif de finaliser ces travaux** sur la mise en place de classes de danger pour les perturbateurs endocriniens dans le **CLP courant 2022**.

Réunion du groupe d'experts sur les PEs de l'ECHA.

Le 13 avril 2021 a eu lieu la 19^{ème} réunion du **groupe d'experts sur les PEs** institué en 2014 et coordonné par l'ECHA⁴.



Lors de de cette réunion, l'utilisation des tests sur les amphibiens était à l'ordre du jour : AMA (Amphibian Metamorphosis Assay) ; LAGDA (Larval Amphibian Growth and Development Assay). Ces essais sont souvent en jeu sur les questions de PE, notamment pour les aspects liés à la thyroïde.

Les activités de la Commission Européenne relatives aux PEs, et les activités d'ECHA sur le regroupement de substances en lien avec les PEs ont été discutées. Le groupe a aussi émis un avis sur l'évaluation PE de 3 substances. Pour l'une, le bisphénol S, les preuves ont été jugées suffisantes pour conclure au caractère PE pour la santé humaine et l'environnement. Pour le 2-éthylhexyletrans-4-méthoxycinnamate (MOC) et l'isopentylep-méthoxycinnamate (IPMC) des tests supplémentaires ont été suggérés, notamment des essais sur poisson ou amphibien.

⁴ https://echa.europa.eu/documents/10162/21877836/flashreport_edeg-g19_en.pdf/868eb9c7-29ea-77a0-01c7-7581d69dd022

Développement de méthodes d'essai : Enquête et Workshop de EURION.

Le « **cluster** » **EURION** (European Cluster to Improve Identification of Endocrine Disruptors)⁵ regroupe des projets de recherche européens sur les PEs. En Décembre 2020, il a organisé un workshop, après une enquête à laquelle avaient répondu 73 Parties Prenantes (recherche académique, autorités réglementaires, industriels, ONG, organismes de recherche, des décideurs politiques ...) Il s'agissait d'échanger sur les points de vue, besoins et attentes sur les méthodes d'essai en termes de **développement, de stratégie internationale et de validation (cf. lignes directrices d'essai)**. Le compte rendu est disponible (en anglais)⁶.

Si le besoin d'essais à haut débit n'a pas semblé prioritaire, si l'enrichissement des essais OCDE par de nouvelles mesures de marqueurs biologiques a suscité des réserves (minoritaires), les parties prenantes sont toutes en faveur de batteries de test (et non des tests uniques) et d'une communication des résultats selon des formats harmonisés (par ex. indications pour les performances des tests, y compris l'analyse des incertitudes). Il a également été souligné que les paramètres étudiés *in vitro* doivent avoir un lien clair avec des effets *in vivo*.

Publications.



La démarche qui a permis à PEPPER, appuyé sur des équipes de recherche, d'identifier les méthodes soumises au comité sur l'Opportunité en Septembre 2020 a été publiée dans la revue *Environment International* : 'Identification of non-validated endocrine disrupting chemical characterization methods by screening of the literature using artificial intelligence and by database exploration'⁷.



Le **rapport complet** du 2^{ème} forum annuel sur les perturbateurs endocriniens organisé par la Commission Européenne, les 17 et 18 décembre 2020, a été publié en mars 2021⁸.



PEPPER

PLATEFORME PUBLIC-PRIVÉ SUR LA
PRÉ-VALIDATION DES MÉTHODES D'ESSAI SUR
LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

<https://ed-pepper.eu/>

⁵ <https://eurion-cluster.eu>

⁶ https://eurion-cluster.eu/wp-content/uploads/2021/03/EURION-Stakeholder-Workshop_Summary-Report_Final-1.pdf

⁷ <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106574>

⁸ https://ec.europa.eu/environment/system/files/2021-03/Conference%20Report_final.pdf