



**COMITE SCIENTIFIQUE  
DE L'AGENCE FEDERALE POUR LA SECURITE  
DE LA CHAINE ALIMENTAIRE**

**AVIS 29-2009**

**Concerne** : Risques chimiques émergents - Etude de cas: les perturbateurs endocriniens (**dossier Sci Com 2007/07bis : auto-saisine**).

Avis approuvé par le Comité scientifique le 9 octobre 2009.

**Résumé**

Le présent avis a pour objectif d'étudier, sous forme d'étude de cas, les perturbateurs endocriniens afin de présenter une synthèse de l'état des connaissances sur le sujet et d'émettre des recommandations pour le programme de contrôle de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA) et pour la recherche scientifique. Les phyto-œstrogènes (substances naturelles), des contaminants chimiques (polluants organiques persistants, tels que les pesticides organochlorés et leurs métabolites), des produits industriels (comme le bisphénol A) et les produits pharmaceutiques sont considérés. Le Comité scientifique recommande en particulier de contrôler la présence de phyto-œstrogènes dans les aliments (novel food, compléments alimentaires).

**Summary**

**Advice 29-2009 of the Scientific Committee of the FASFC on endocrine disruptors**

This advice concerns a case study on endocrine disruptors in the food chain aimed at presenting a synthesis of current knowledge on the subject and to make recommendations for the control program of the Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC) and for scientific research. Phytoestrogens (natural), chemical contaminants (persistent organic pollutants such as organochlorine pesticides and their metabolites), industrial products (such as bisphenol A) and pharmaceuticals are considered. The Scientific Committee particularly recommends to control the presence of phytoestrogens in food (novel food, food supplements).

**Mots clés**

Perturbateurs endocriniens, phyto-œstrogènes, contaminants chimiques, produits pharmaceutiques

## 1. Termes de référence

### 1.1. Objectifs

Le Comité scientifique a émis un premier avis (Avis 35-2007) sur les risques chimiques émergents. Cet avis se présente en deux parties. Une première partie définit le concept de «risques chimiques émergents (RCE)», situe l'étude des RCE dans le contexte national et international, établit un système de classification des risques chimiques émergents. Une deuxième partie traite en profondeur une étude de cas «les mycotoxines émergentes».

Le présent avis a pour objectif d'étudier, sous forme d'étude de cas, les perturbateurs endocriniens afin de présenter une synthèse de l'état des connaissances sur le sujet et d'émettre des recommandations pour le programme de contrôle de l'AFSCA et pour la recherche scientifique.

Vu les discussions durant les réunions du groupe de travail des 19 février 2008, 27 mai 2008, 5 septembre 2008, 12 février 2009, 3 avril 2009 et la séance plénière du 9 octobre 2009,

**le Comité scientifique émet l'avis suivant :**

## 2. Les perturbateurs endocriniens - Introduction générale

Le terme «perturbateur endocrinien» désigne un ensemble de substances susceptibles de perturber les fonctions hormonales. L'«International Programme for Chemical Safety (IPCS)» et d'autres experts ont défini l'expression «perturbateur endocrinien» de la manière suivante: «Un perturbateur endocrinien est une substance ou un mélange exogène, altérant les fonctions du système endocrinien et induisant de ce fait des effets néfastes sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou de sous-populations» (EC, 1999).

De nombreuses substances chimiques agissent comme des perturbateurs endocriniens en interférant avec le système hormonal des animaux ou des humains. Parmi les systèmes hormonaux touchés par ces perturbateurs, on peut citer ceux relatifs aux œstrogènes, androgènes, progestagènes et aux hormones thyroïdiennes. Les médiateurs de l'action de ces hormones sont des récepteurs nucléaires dans les cellules cibles: récepteurs aux œstrogènes (ER $\alpha$  et ER $\beta$ ), aux androgènes (AR), aux progestagènes (PR) et aux hormones thyroïdiennes (TR). Des effets aberrants, qui touchent ces systèmes hormonaux, passent pour la plupart (voir plus bas) par ces récepteurs et sont impliqués dans un grand nombre de maladies telles que le syndrome métabolique, incluant l'obésité et le diabète de type 2, les maladies cardiovasculaires, le cancer, les problèmes immunitaires, les maladies du développement, les problèmes respiratoires, des dysfonctionnements du système nerveux central, la puberté précoce et l'infertilité (Preziosi, 1998). De plus, le développement fœtal normal est finement régulé par les hormones. Il s'en suit que l'exposition à des substances chimiques pendant les premières étapes de la vie peut entraîner des modifications irréversibles se traduisant par des maladies, des dysfonctions et/ou des risques accrus à l'âge adulte (Preziosi, 1998).

La modulation de fonctions endocrines par des substances xénobiotiques<sup>1</sup>, conduisant soit à une réduction, soit une augmentation des effets hormonaux, peut s'effectuer selon trois mécanismes:

- 1) En bloquant les récepteurs des hormones naturelles (effet antagoniste),

---

<sup>1</sup> Xénobiotique : Terme général, dérivé du grecque 'xeno' qui signifie étranger, utilisé pour désigner une substance étrangère incorporée dans le corps. Les xénobiotiques peuvent produire des effets bénéfiques (médicaments) ou des effets toxiques (plomb).

- 2) En mimant les effets des ligands naturels des récepteurs hormonaux (effet agoniste),
- 3) En modulant directement la synthèse, le transport, le métabolisme et l'excrétion des hormones naturelles, sans interagir avec les récepteurs des hormones.

Les perturbateurs endocriniens sont soit des produits naturels (phyto-œstrogènes) soit des contaminants chimiques de synthèse (polluants organiques persistants (POP), pesticides et autres produits industriels, résidus de médicaments,...).

Pour évaluer un effet perturbateur endocrinien, aucun critère spécifique n'a été défini dans la littérature, aucune approche standardisée n'existe actuellement. Néanmoins, l'Agence Américaine pour la Protection de l'Environnement (EPA) et l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE) ont proposé plusieurs batteries de tests (EPA, 2009 ; OCDE, 2000 ; Huet, 2000 ; Clode, 2006).

Les outils disponibles pour évaluer un effet perturbateur endocrinien chez l'homme reposent sur des études *in vitro* et *in vivo*.

*In vivo*, chez le rat et la souris, ils permettent de détecter une activité œstrogène et/ou anti-œstrogène (test utéro-trophique) ou alors une activité androgénique ou anti-androgénique (test de Hershberger).

*In vitro*, les tests s'appuient essentiellement sur les mécanismes d'action, cellulaires et moléculaires, des perturbateurs endocriniens. Les résultats ne peuvent pas être extrapolés à la réalité physiologique *in vivo* en termes d'effets pharmaco-toxicologiques. En effet, ils ne prennent pas en compte les phénomènes d'absorption, de transport, de biotransformation et d'élimination subi par le xénobiotique ingéré.

Dans ce document, on considèrera plus particulièrement les effets œstrogènes de certaines substances, à savoir les phyto-œstrogènes (substances naturelles), des contaminants chimiques (polluants organiques persistants, tels que les PCBs, les dioxines et furanes, des pesticides organochlorés et leurs métabolites), des produits industriels (comme le bisphénol A, les alkylphénols dont le nonylphénol, des phtalates) dont les applications sont multiples ainsi que des résidus de médicaments qui se retrouvent dans la chaîne alimentaire et dans l'environnement. Des fiches spécifiques illustrant quatre types de perturbateurs endocriniens susceptibles d'être présents dans la chaîne alimentaire figurent en annexe. Il s'agit de:

- la génistéine comme représentant des phyto-œstrogènes (annexe 2),
- le DDT et produits dérivés pour les contaminants environnementaux (annexe 3),
- le bisphénol A (BPA) comme représentant des produits industriels (annexe 4),
- l'éthinylœstradiol comme représentant des résidus de médicaments (annexe 5).

Pour ces quatre substances, une tentative d'analyse de risque plus poussée est proposée.

### 3. Les phyto-œstrogènes

#### 3.1. Identification des dangers

Le terme «phyto-œstrogènes» regroupe plusieurs molécules issues du monde végétal, de structures différentes, non stéroïdiques, mais présentant notamment après métabolisation<sup>2</sup> une similarité avec la structure de l'œstradiol, et capables de se lier aux récepteurs des œstrogènes (AFSSA, 2005).

Les phyto-œstrogènes appartiennent à la classe des polyphénols. Les coumestanes, les isoflavones et les lignanes forment les trois principales classes de phyto-œstrogènes (Duquesnoy, 2005). Les flavanones prénylées constituent une autre classe importante de phyto-œstrogènes, mais il est vrai qu'elles sont moins fréquentes dans l'alimentation courante. On les trouve surtout dans le houblon et donc dans la bière ainsi que dans certains compléments alimentaires (Overk *et al.*, 2008).

Certains phyto-œstrogènes sont présents dans des aliments traditionnellement consommés en occident (par exemple certains fruits et graines et tout particulièrement les graines de lin contiennent des lignanes) ou non (le soja qui contient des isoflavones). Ces substances sont également présentes dans les préparations à base de protéines de soja destinées aux nourrissons et aux enfants en bas âge (AFSSA, 2005).

De nombreuses plantes sont citées dans la littérature pour leur effet œstrogène. Arao *et al.* (2007) ont examiné 88 plantes pour leur activité œstrogène. Sur les 88 plantes, 18 expriment une activité œstrogène.

Le *Cimicifuga racemosa* (actée à grappes) est disponible en Belgique sous la forme de compléments alimentaires utilisés contre les troubles de la ménopause (Bolle *et al.*, 2007; Borrelli *et al.*, 2003). Cette plante contient des glycosides triterpéniques. La formononétine a été identifiée par Bolle *et al.* (2007) comme se liant au récepteur œstrogène dans l'utérus des rats. Borrelli *et al.* (2003) ont rapporté que le *Cimicifuga racemosa* aurait une action centrale plutôt qu'hormonale. Les données sur la nature des substances actives et le mécanisme d'action sont encore controversées, surtout en ce qui concerne l'activité œstrogène.

Les plantes ayant fait la démonstration de leurs propriétés œstrogènes sont le soja (graines), le trèfle (feuilles), la luzerne (feuilles), le houblon (cônes), le kudzu (*Pueraria lobata*) (feuilles et racine), la réglisse (racines), le lin (graines) et le fenouil (fruits) (AFSSA, 2005). Les fruits d'anis vert (*Pimpinella anisum*) et de badiane ou anis étoilé (*Illicium verum*) auraient les mêmes propriétés que le fenouil.

Les concentrations en phyto-œstrogènes peuvent varier considérablement entre espèces de plantes (FSA, 2003). Les concentrations et les formes chimiques des phyto-œstrogènes varient également entre les variétés de graines de soja (FSA, 2003).

L'annexe 1 présente les principales substances naturelles connues pour leurs effets œstrogènes. Cette liste n'est pas exhaustive.

#### 3.2. Caractérisation des dangers

Les phyto-œstrogènes possèdent des propriétés œstrogènes dues à leur structure semblable, après métabolisation, à l'hormone stéroïde 17  $\beta$ -œstradiol. En effet, ils possèdent des groupes hydroxyliques et/ou phénoliques espacés d'une distance similaire à celle qui existe dans la structure de l'œstradiol. La structure chimique des phyto-œstrogènes détermine leur affinité, sélectivité et efficacité de liaison avec les récepteurs œstrogènes ER  $\alpha$  et ER  $\beta$  (FSA, 2003). Les phyto-œstrogènes se lient aux deux récepteurs. Cependant, la génistéine, le coumestrol et la daidzéine montrent une plus grande sélectivité pour la liaison

---

<sup>2</sup> les phyto-œstrogènes sont souvent présents dans les plantes sous forme de glucosides sans activité œstrogène

au récepteur œstrogène ER  $\beta$  que pour le récepteur œstrogène ER  $\alpha$  (FSA, 2003). Les phyto-œstrogènes peuvent mimer ou bloquer l'action de l'œstradiol, bien qu'ils soient moins actifs. Les phyto-œstrogènes peuvent agir comme agonistes et apporter des effets bénéfiques (au niveau du système cardio-vasculaire et osseux) à la femme ménopausée chez qui le taux d'œstrogènes est nettement diminué. En revanche, ils peuvent soit augmenter le risque de cancer du sein et de l'utérus; soit le diminuer en agissant comme antagonistes (anti-œstrogènes) avec un effet protecteur contre le cancer du sein; exercer des effets toxiques au stade du développement, en interférant avec la différenciation sexuelle normale (Scippo and Maghuin-Rogister, 2007). Les principaux effets délétères sont liés à une exposition intra-utérine aux phyto-œstrogènes, qui peut s'accompagner d'effets tératogènes et carcinogènes au niveau du système reproducteur (Preziosi, 1998; Scippo and Maghuin-Rogister, 2007). On doit aussi s'interroger quant à leur responsabilité dans l'augmentation des cas de gynécomastie, voire de cancers du sein, chez des sujets mâles âgés.

Dans une revue récente concernant le métabolisme des phyto-œstrogènes du soja, Cederroth and Nef (2009) insistent également sur les propriétés bénéfiques du soja au niveau du métabolisme du glucose et des lipides.

Sur base des résultats des études *in vitro* et *in vivo* des phyto-œstrogènes, la FSA (2003) a pu établir un classement de l'activité œstrogène (potentiel œstrogène relatif des phyto-œstrogènes (bien que celle-ci soit difficile à déterminer car les valeurs d'activité dépendent du test utilisé et varient considérablement) : œstradiol > coumestrol > génistéine et équol > glycitéine, 8-PN > daidzéine > formononétine, biochanine A, 6-prénylnaringénine, xanthohumol et isoxanthohumol. Les activités œstrogènes des métabolites conjugués sont plus faibles que celles des phyto-œstrogènes parents (FSA, 2003).

Plusieurs publications scientifiques ont attiré l'attention sur le potentiel d'affecter la fonction thyroïdienne pour des formules à base de soja pour enfants en bas-âge. Ces travaux se sont concentrés largement sur les effets des formules dans les tests de fonction de la thyroïde et de leurs interactions potentielles avec la thérapie de remplacement à la thyroxine (FSA, 2003). Néanmoins, il faut signaler à ce niveau que, suite à l'expérience clinique acquise chez les patientes sous contraceptifs oraux, il est maintenant bien établi que les effets dans les tests, observés au niveau de la TBG (Thyroxin Binding Globuline) et des hormones thyroïdiennes T3 et T4 totales (formes liées + formes libres), ne se retrouvent pas au niveau des formes libres (biologiquement actives). On peut donc conclure que des perturbateurs endocriniens comme les phyto-œstrogènes ou des résidus d'éthinylœstradiol n'ont pas d'impact sur la fonction thyroïdienne elle-même.

Des études *in vitro* ont montré que les phyto-œstrogènes peuvent influencer certaines réponses immunes (FSA, 2003).

Courant (2007) a estimé une dose journalière admissible (DJA) sur base des données de la littérature pour les phyto-œstrogènes à 7,3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{jour}$ .

### **3.3. Estimation de l'exposition**

L'estimation des apports alimentaires en phyto-œstrogènes est essentielle pour l'évaluation des risques et des bénéfices de ces substances.

Les phyto-œstrogènes sont avant tout présents dans les produits végétaux. Le soja, les légumes et les fruits en contiennent le plus. Néanmoins, on ne doit pas négliger les apports en phyto-œstrogènes par la bière, le houblon étant une source importante (Chadwick *et al.*, 2006). Pour les personnes qui ont recours à des compléments alimentaires (femmes ménopausées p. ex.), il faut aussi tenir compte de cet apport dans l'estimation de l'exposition.

#### 3.3.1. Denrées d'origine animale

L'occurrence des phyto-œstrogènes dans les matrices d'origine animale est peu étudiée mais considérée comme négligeable par rapport aux hormones œstrogènes naturellement présentes dans la viande, les abats, le lait et les œufs (Maghuin-Rogister, 1991; Stephany *et al.*, 2004; Courant *et al.*, 2007).

Kuhnle *et al.* (2008) ont déterminé le contenu en phyto-œstrogènes (isoflavones: biochanine A, daidzéine, formononétine, génistéine, et glycitéine; lignanes: sécoisolaricirésinol et matarésinol; coumestrol; équol; entérolactone; et entérodol) dans 115 denrées alimentaires d'origine animale. Le contenu moyen en phyto-œstrogène était de 20 µg/100 g poids humide (Kuhnle *et al.*, 2008).

D'après Duquesnoy (2005), le régime alimentaire de la vache laitière a une influence sur la quantité de phyto-œstrogènes dans le lait. La zéaralénone (ZEN) est souvent associée à une contamination du maïs. A noter qu'il ne s'agit pas à proprement parler d'un phyto-œstrogène mais plutôt d'une mycotoxine contaminant certaines productions végétales comme les céréales. La ZEN est majoritairement transformée en  $\alpha$ -zéaralénol dont la toxicité est environ 10 fois plus élevée que la toxine mère et, à un degré plus faible, en  $\beta$ -zéaralénol qui est peu toxique. La ZEN et ses métabolites présentent un risque potentiel pour le consommateur du fait de leur excrétion dans le lait de vache.

### 3.3.2. Aliments d'origine végétale

Les principaux phyto-œstrogènes dans les denrées alimentaires sont les isoflavones, les lignanes, les coumestanes et les flavonoïdes. Les isoflavones et les lignanes sont, d'après Ritchies *et al.* (2006), les plus communément retrouvés dans le régime alimentaire.

### 3.3.3. Les compléments alimentaires

La FSA (2003) a réalisé des analyses sur une série de compléments alimentaires contenant des phyto-œstrogènes disponibles au Royaume-Uni. L'exposition aux isoflavones a été estimée à approximativement 1,5 mg/kg poids corporel par jour pour un adulte de 60 kg sur base de la dose journalière recommandée par les fabricants pour la concentration en isoflavones la plus élevée. Une ingestion journalière de 40, 50 et 80 mg d'isoflavones, isolées à partir de graines de soja, via des compléments alimentaires, a été rapportée par le BfR (2007).

L'arrêté ministériel du 28/02/05 modifiant l'Arrêté royal du 29 août 1997 relatif à la fabrication et au commerce de denrées alimentaires composées ou contenant des plantes ou des préparations de plantes mentionne, entre autre, les teneurs suivantes à ne pas dépasser :

- Actée à grappes : *Cimicifuga racemosa*  
portion journalière ingérée, **maximum 3,0 mg de glycosides terpéniques**  
(exprimés en 27-déoxyactéine)
- Houblon : *Humulus lupulus*  
portion journalière ingérée, **maximum 400 µg** (exprimés en 8-prénylnaringénine)
- Soja, *Glycine max*  
portion journalière ingérée, **maximum 40 mg** (exprimés en glycosides flavoniques)
- Gattilier : *Vitex agnus-castus*  
portion journalière ingérée, **maximum 96 mg équivalent de fruit séché**

Les teneurs maximales fixées sont différentes suivant la classe phytochimique de ces perturbateurs endocriniens.

### 3.3.4. Les boissons

D'après la base de données établie par Kyle and Duthie, les catechines sont souvent les flavanoïdes les plus communs dans les boissons comme les jus de fruits, le thé et le vin (cité par Andersen and Markham, 2006).

Le caractère œstrogène total de la bière est 500 à 1000 fois plus faible que ce qui est nécessaire pour une activité nuisible *in vivo* (~100 mg/L) chez le rat (cité par Possemiers, 2007).

Des données récentes sur les concentrations en phyto-œstrogènes dans les denrées alimentaires peuvent être trouvées dans les références suivantes : Blitz *et al.*, 2007 ; Gry *et al.*, 2007 ; Kuhne *et al.*, 2009a, 2009b ; Schwartz *et al.*, 2009.

### 3.4. Caractérisation du risque

Les phyto-œstrogènes comportent essentiellement les isoflavones, retrouvées en quantité importante dans le soja et les produits dérivés, et les entérolignanes, dont les précurseurs (lignanes) sont présents en plus faible quantité dans nombre d'aliments: fruits, légumes, céréales et graines oléagineuses. D'autres molécules existent comme les coumestanes, qui, présentes essentiellement dans le trèfle et la luzerne, ne font pas partie de l'alimentation humaine mais se retrouvent dans des compléments alimentaires. Les autres phyto-œstrogènes (chalcones, isoflavanes...) ont été relativement peu étudiés. Des plantes sont utilisées traditionnellement pour leurs effets potentiellement œstrogènes (AFSSA, 2005).

Des recherches dans le monde sur les phyto-œstrogènes ont conduit à beaucoup de rapports conflictuels dans la presse scientifique et populaire sur les risques et les bénéfices de la consommation d'aliments riches en phyto-œstrogènes.

Chez les animaux, l'exposition à de grandes quantités de phyto-œstrogènes a montré des effets négatifs sur la fertilité (Duquesnoy, 2005), et laisse penser que des effets similaires pourraient avoir lieu chez les humains, particulièrement chez les bébés alimentés avec des formules infantiles à base de soja. Pourtant, des études sur des populations qui consomment traditionnellement des aliments riches en phyto-œstrogènes, les Chinois et les Japonais par exemple, suggèrent qu'ils peuvent avoir des effets bénéfiques sur l'ostéoporose, les maladies cardiovasculaires et certains cancers (FSA, 2003). Mais il y aurait des différences de sensibilité aux œstrogènes selon la race ou les habitudes alimentaires (Sharpe, 1998).

Les phyto-œstrogènes semblent être capables d'influencer un nombre de fonctions dans le corps humain (BfR, 2007). Lorsqu'ils se lient aux mêmes récepteurs que les œstrogènes endogènes, quoiqu'avec une affinité moindre, ils peuvent théoriquement avoir un impact favorable sur la prévention des cancers du sein, de la prostate ainsi que, sous certaines circonstances, des maladies cardiovasculaires et de l'ostéoporose. Le niveau de connaissance des effets des phyto-œstrogènes et des effets d'autres plantes bioactives n'est, cependant, pas suffisant pour être capable d'aboutir à des recommandations pour l'ingestion de substances individuelles spécifiques (BfR, 2007). Ainsi, la consommation d'aliments à base de soja riches en isoflavones a été faiblement associée à la réduction du cancer du colon (cité par Andersen and Markham, 2006).

Des facteurs comme l'âge et la sensibilité biologique aux différents protecteurs potentiels ou aux effets néfastes (qui changent avec l'âge) des isoflavonoïdes semblent jouer un rôle. Les femmes post-ménopausées peuvent bénéficier, en termes de protection contre les maladies du cœur et l'ostéoporose, de stratégies thérapeutiques de remplacement des œstrogènes endogènes qui utilisent les isoflavonoïdes. Les hommes âgés peuvent également bénéficier d'une protection contre des problèmes comme les cancers de la prostate et les maladies cardiovasculaires (cité par Andersen and Markham, 2006).

L'AFSSA (Agence française pour la Sécurité Sanitaire des Aliments) a publié, en 2005, un travail sur les phyto-œstrogènes. Des recommandations pour la recherche scientifique, la santé publique et des informations pour le consommateur sont mentionnées pour chaque point traité dans l'étude. Sur base d'études toxicologiques, l'AFSSA a proposé une limite d'ingestion maximale (au-delà de laquelle des effets toxiques pourraient être observés) de 1 mg/kg de poids corporel et par jour pour les isoflavones et a recommandé en 2005 l'étiquetage des aliments ou compléments alimentaires de la manière suivante:

« - *Aliments à base de soja (tonyu, miso, tofu, yaourts et desserts au soja) : Contient X mg d'isoflavones (famille des phyto-œstrogènes). A consommer avec modération (limiter la consommation quotidienne à 1 mg/kg poids corporel). Déconseillé aux enfants de moins de 3 ans.*

*Compléments alimentaires (phyto-œstrogènes purs ou extraits de plantes en contenant) et aliments enrichis : Contient X mg de [molécule (s) concernée (s)]\* (famille des phyto-*

œstrogènes). Ne pas dépasser 1 mg/kg de poids corporel par jour. Déconseillé aux femmes ayant des antécédents personnels ou familiaux de cancer du sein. Parlez-en à votre médecin.

\* isoflavones et/ou isoflavanes et/ou coumestanes et/ou flavanones et/ou chalcones et/ou entérolignanes »

Les experts du groupe de travail COT (Committee on Toxicity) ont examiné: i) si les phyto-œstrogènes posent un risque pour les enfants en bas âge alimentés avec des formules à base de soja; ii) si l'ingestion de phyto-œstrogènes a des implications pour d'autres groupes de la population et iii) s'il existe des effets bénéfiques liés à la consommation de phyto-œstrogènes.

Le groupe de travail COT conclut qu'il est possible que les phyto-œstrogènes puissent avoir des effets néfastes pour les personnes hypothyroïdiennes. De plus, malgré les allégations que les phyto-œstrogènes ont un impact bénéfique sur la santé, le groupe ne supporte pas cette vue faute de preuves convaincantes. C'est pourquoi, le groupe de travail COT recommande d'effectuer des recherches supplémentaires pour permettre de réaliser une évaluation plus fine du risque lié à l'ingestion de phyto-œstrogènes (FSA, 2003).

Le BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) a entrepris une évaluation des effets sur la santé des compléments alimentaires contenant des isoflavones. Il arrive à la conclusion qu'une ingestion à long terme de compléments alimentaires avec des niveaux élevés en isoflavones n'est pas sans risque de cancer du sein chez les femmes pendant et après la ménopause (BfR, 2007).

A titre d'exemple d'analyse de risques d'un phyto-œstrogène, le cas de la génistéine est traité dans une des fiches en annexe.



## 4. Les contaminants (perturbateurs endocriniens) industriels et environnementaux

### 4.1. Identification des dangers

Les xénobiotiques œstrogènes incluent divers groupes de produits chimiques: les pesticides organochlorés (DDT, endosulfan), des herbicides (atrazine), des polluants (PCB, dioxines), des produits chimiques industriels comme les alkylphénols et les phtalates.

#### 4.1.1. Pesticides et biocides

Un certain nombre de pesticides et leurs métabolites, DDT, diuron, atrazine, endosulfan, méthoxychlore, toxaphène, kepone, linuron et vinclozoline ont été rapportés comme ayant une activité endocrine (Miyamoto and Klei, 1998).

Un grand nombre de pesticides et de composés chimiques industriels, possédant une activité œstrogène-like, sont ubiquitaires dans l'environnement et se retrouvent dans le chaîne alimentaire. Les pesticides suivants ont une activité œstrogène: endosulfan, 1-hydroxychlorane, dicofol et méthoxychlore. Certains de ces pesticides, comme le méthoxychlore, nécessitent d'être métabolisés avant de se lier aux récepteurs œstrogènes et leurs métabolites peuvent avoir une activité œstrogène (Liehr *et al.*, 1998).

Un des xéno-œstrogènes le plus connu est le o,p' DDT qui est le contaminant du DDT le plus important. Une analyse de risques du DDT est présentée en annexe.

Le chlordécone (kepone), la dieldrine, l'aldrine, l'endosulfan, le toxaphène et le linuron ont des propriétés œstrogènes et anti-androgéniques. Le chlordécone et l'o,p' DDD sont similaires pour leur affinité pour les récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone.

Le triclosan est un bactéricide utilisé comme composant de détergents en médecine et de produits d'entretien (Calafat *et al.*, 2008b). Cette substance n'est pas pure, elle peut être contaminée par des dioxines. On retrouve le triclosan dans les poussières de maison suite à son usage domestique. Cette substance aurait des propriétés de perturbateur endocrinien (Veldhoen *et al.*, 2006).

Le Règlement (CE) N° 396/2005<sup>3</sup> fixe des limites maximales pour les résidus (LMR) de pesticides dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale. Les LMR d'application en Europe sont consultables sur le site de la DG SANCO ([http://ec.europa.eu/sanco\\_pesticides/public/index.cfm](http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm)).

Une série de substances pourraient être retirées à brève échéance de la liste des pesticides autorisés, dont certaines pour leurs effets perturbateurs du système endocrinien (Projet de révision de la directive 91/414/CEE du Conseil, du 15 juillet 1991, concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques).

#### 4.1.2. Les contaminants industriels et environnementaux

Des produits industriels, tel que les produits organobromés, (retardateurs de flammes, comme les PBDEs (Poly-Bromo-Diphenyl-Ethers)) et des PCB (Poly-Chlorinated Biphenyls), des phtalates et des styrènes ont une activité œstrogène et sont des contaminants de l'environnement. Bien que la plupart de ces composés soient des œstrogènes faibles, ils peuvent s'accumuler dans les tissus animaux et humains et exercer leurs effets hormonaux à des concentrations élevées (Liehr *et al.*, 1998).

---

<sup>3</sup> Règlement (CE) NO 396/2005 du parlement européen et du conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil.

Un certain nombre de PCB à activité œstrogène et de métabolites de PCB sont présents dans le poisson et d'autres animaux, ainsi que dans des tissus humains, le sang et le lait maternel. Certains des métabolites des PCB sont des antagonistes des œstrogènes. Certains PCB sont connus pour altérer la fonction thyroïdienne. Les plus communément retrouvés dans les tissus humains contiennent du chlore en position 6 ou 7 (Preziosi, 1998).

Les produits chimiques de type alkylphénol et leurs produits de décomposition (ex. 4-octylphénol, 4-nonylphénol, bisphénol A), composés d'une chaîne alkyl contenant au moins 3 carbones et d'une chaîne hydrocarbonée, peuvent aussi avoir une activité œstrogène (cité par Preziosi, 1998). Ces composés, qui sont des produits de dégradation des surfactants non-ioniques (alkylphénol, polyéthoxylates, APEOS) et des articles en plastique de laboratoire (ex. 4-nonylphénol, bisphénol A), sont suspectés d'altérer la reproduction chez le poisson (cité par Preziosi, 1998).

Des matériaux en contact avec des denrées alimentaires pourraient aussi être incriminés. La fiche sur le bisphénol A en annexe donne plus de détails à propos des résidus de migration à partir de matériaux en contact avec les aliments.

Une activité de perturbateur endocrinien a été détectée dans l'eau minérale en bouteilles de polyéthylène téréphtalate (PET) (Wagner and Oehlman, 2009), sans vraiment montrer une différence entre l'eau minérale conditionnée en bouteilles en verre ou en PET. D'autres auteurs (Pinto and Reali, 2009), n'ont pas confirmé ces résultats. Le BfR a publié une opinion (BfR, 2009) à ce sujet dans laquelle il considère que d'autres travaux plus rigoureux d'un point de vue scientifique devraient être menés avant de conclure sur ce risque.

Les hydrocarbures halogénés sont des contaminants environnementaux avec une faible activité œstrogène. Bien que la nature de leurs interactions avec les récepteurs œstrogènes est peu comprise, on pense que les substituts chlorés de ces hydrocarbures sont capables de jouer un rôle similaire aux substituts hydroxyl du phénol (Liehr *et al.*, 1998).

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) forment un groupe de composés organiques avec deux ou plusieurs noyaux aromatiques. Des études *in vivo* et *in vitro* ont démontré que certains HAP avaient une activité œstrogène et anti-œstrogène. Il a été montré que les métabolites phénoliques plutôt que le composé parent sont responsables pour ces effets. Le potentiel du 3-hydroxybenzo[a]pyrène et du 9-hydroxy-benzo[a]pyrène était équivalent à celui de l'œstradiol (SCF, 2002).

#### 4.1.3. Les cosmétiques

Les produits de protection solaire, les produits de soins corporels, et les cosmétiques comme les shampooings, les gels capillaires, les lotions corporelles et les protections pour les lèvres contiennent des substances agissant comme filtre UV. Parmi ces substances, le 4-méthylbenzylidène camphor (4-MBC) montre des effets œstrogènes (Carou *et al.*, 2009; SCCP, 2008).

La présence de parabène dans le corps humain qui proviendrait de l'application de cosmétiques a été confirmée par l'analyse des urines humaines (Darbre and Harvey, 2008). Sur base d'une grande variété de systèmes de tests *in vitro* et *in vivo*, les propriétés œstrogènes agonistes du parabène avec celles de son métabolite (acide p-hydroxybenzoïque) ont été documentées. De plus, il a été montré que le parabène possède une activité antagoniste androgène, agissant comme inhibiteur de l'enzyme sulfotransferase, et possède une activité génotoxique (Darbre and Harvey, 2008).

## **4.2. Caractérisation des dangers**

Il existe de très nombreux xénobiotiques environnementaux. Beaucoup de ceux-ci ont un intérêt dans le cadre de ce dossier puisqu'ils possèdent une activité œstrogène. Dans une diversité de tests *in vivo* et *in vitro*, leur potentiel œstrogène comparé au 17 β-œstradiol, œstrogène humain naturel principal, varie de faible ( $10^{-3}$ ) à très faible ( $10^{-6}$ ) (Li and Li, 1998).

Ces perturbateurs endocriniens peuvent agir à plusieurs niveaux au sein du système endocrinien: interactions avec les récepteurs, synthèse hormonale, métabolisme, dégradation et transport. Pour la plupart, leurs effets sont centrés sur l'interaction avec les récepteurs œstrogènes (ER) (Li and Li, 1998).

Beaucoup de ces composés peuvent aussi posséder des propriétés cytotoxique, mutagène, et/ou une activité cancérogène (Li and Li, 1998).

Il a été reconnu que l'exposition humaine aux xéno-œstrogènes est le résultat d'un mélange de ces composés. Il y a assez de preuves qui montrent que les effets œstrogènes des mélanges de xénobiotiques sont principalement additifs, et seulement quelque fois plus élevés (effet synergique) que ceux observés quand les xénobiotiques sont testés individuellement dans les systèmes *in vivo* et *in vitro* (Li and Li, 1998).

#### 4.2.1. Les pesticides

Des études *in vivo* sur des animaux de laboratoires ont montré que le métabolite p,p'-DDE du DDT, les fongicides vinclozoline, procymidone et prochloraz, l'herbicide linuron et les PBDE (polybrominated diphenyl ethers) sont des anti-androgènes environnementaux, antagonistes du récepteur androgène (Hotchkiss *et al.*, 2008).

Les pesticides chlorophénoliques, les acides chlorophénoxy et organochlorés peuvent modifier les niveaux de circulation de la thyroxine (T4) et altérer la fonction thyroïdienne (cité par Preziosi, 1998). Cette observation doit cependant être interprétée avec précaution quant à l'impact réel de ces composés sur la fonction thyroïdienne puisqu'il s'agit de taux de T4 totaux (voir plus haut).

Certains composés organochlorés comme le DDT et des métabolites dérivés, la dieldrine, et l'hexachlorocyclohexane (HCH) ont été décrits comme pouvant intervenir dans le cancer du sein. Des corrélations positives ont été rapportées entre le risque de cancer du sein, et d'autres tumeurs chez la femme, et les niveaux en DDE ou DDT dans les tissus graisseux ou le sérum. Les niveaux de dieldrine dans le sérum ont été associés avec une augmentation significative du risque de cancer du sein et de mortalité (Ibarluzea *et al.*, 2004). Ibarluzea *et al.* (2004) ont trouvé que l'aldrine et le lindane peuvent augmenter le risque de cancer du sein. Cette relation est supportée biologiquement par les propriétés œstrogènes de ces deux pesticides (cité par Ibarluzea *et al.*, 2004). Des études épidémiologiques en Colombie et à Mexico City ont montré un risque relativement élevé de cancer du sein chez la femme avec des niveaux élevés de DDE (cité par Ibarluzea *et al.*, 2004). (Voir aussi fiche DDT en annexe).

Le 2-bromopropane est un produit chimique qui altère la fonction reproductive et l'endocrinologie de l'homme (Hotchkiss *et al.*, 2008). Le dibromochloropropane (DBCP) est un composé toxique qui perturbe la fonction endocrinienne chez les hommes. Le pesticide DBCP agit aussi directement sur les cellules comme mutagène. Malgré l'interdiction d'utilisation du DBCP, ce pesticide reste persistant dans le sol et est encore détecté dans les eaux souterraines dans les zones où il a été utilisé (Hotchkiss *et al.*, 2008).

#### 4.2.2. Les contaminants industriels et environnementaux

Les dioxines, les furanes et certains PCB sont des ligands du récepteur arylhydrocarbon (Ah). L'exposition à des agonistes du récepteur Ah est liée à la toxicité développementale et reproductive chez l'homme, les primates, les rongeurs, le poisson et d'autres espèces sauvages (cité par Hotchkiss *et al.*, 2008). Les agonistes du récepteur Ah forment un complexe avec ce récepteur qui agit comme facteur de transcription par liaison avec le DRE (Dioxin Response Element) sur des gènes spécifiques. La toxicité de la TCDD semble résulter de l'activation du récepteur Ah. La TCDD est un perturbateur endocrinien qui agit sur plusieurs composés du système endocrinien. L'exposition à la TCDD altère le niveau de beaucoup d'hormones et de facteurs de croissance et de leurs récepteurs (Hotchkiss *et al.*, 2008).

La TCDD ne produit pas d'effets endocriniens qui soient directement liés au récepteur œstrogène. Cependant, les anomalies, observées chez les animaux exposés à ce composé,

comme l'atrophie testiculaire, la biosynthèse et le niveau de circulation réduite de testostérone, l'atrophie ovarienne et les actions négatives sur le système reproducteur semblent spécialement agir via le récepteur Ah en modifiant le métabolisme des hormones stéroïdes. Les dioxines ne sont pas de vrais anti-œstrogènes bien qu'elles aient un profil anti-œstrogène (cité par Preziosi, 1998). Il s'agirait d'un mode d'action indirect ou le récepteur Ah activé par son ligand viendrait interagir avec le récepteur des œstrogènes, on parle alors d'un cross-talk entre les deux récepteurs (Mathews *et al.*, 2005 ; Shipley and Waxman, 2006).

Le bisphénol A (BPA) a une action œstrogène faible (Sekizawa, 2008). Les effets du BPA à faibles doses sont sujets à des débats scientifiques (Hotchkiss *et al.*, 2008; Calafat *et al.*, 2008a). A des concentrations élevées, le BPA a des effets œstrogènes sur le poids des organes utérins et prostatiques chez les animaux d'expériences. À des doses inférieures à la LOAEL (Low Observed Adverse Effect Level) putative, il a été rapporté que l'exposition au BPA augmente la production de sperme et le volume de la glande prostatique, altère le développement et l'organisation des tissus des glandes mammaires, altère la morphologie vaginale et le cycle œstral, perturbe la différenciation sexuelle du cerveau et accélère la croissance et la puberté (cité par Calafat *et al.*, 2008a) (voir aussi fiche spécifique du BPA en annexe).

Plusieurs esters de phtalates sont anti-androgènes. Des malformations des organes reproducteurs mâles ont été observées après exposition *in utero* à certains phtalates (ex. dibutyl phtalate, butyl benzyl phtalate, DEHP, di-iso-nonyl phtalate) (Hotchkiss *et al.*, 2008).

#### **4.3. Estimation de l'exposition**

L'alimentation est une source particulièrement importante d'exposition aux perturbateurs endocriniens pour la population générale (Baldi and Mantovani, 2008). Un des problèmes majeurs est l'effet cocktail des perturbateurs endocriniens. Les données des contrôles de résidus en Europe indiquent que les limites réglementaires sont dépassées dans une minorité de cas. Cependant, plusieurs perturbateurs endocriniens peuvent être présents dans les aliments à faibles doses mais agir (effets additif, voire synergique) sur la même cible (ex. récepteurs nucléaires). Beaucoup de perturbateurs endocriniens peuvent également s'accumuler, spécialement dans les graisses et former une charge corporelle de contaminants (dioxines, PCB, pesticides organochlorés, retardateurs de flamme) de différentes origines. D'autres composés, moins persistants, peuvent néanmoins se concentrer dans la chaîne alimentaire et dans les tissus corporels et s'ajouter à la charge corporelle. Des exemples de ces composés sont les phtalates, et les organoétains (Baldi and Mantovani, 2008).

L'exposition au BPA peut être estimée sur base des concentrations retrouvées dans les urines (voir fiche BPA).

Vingt ou davantage de composés apparentés aux alkylphénols ont été retrouvés dans des sources d'eau potable (cité par Preziosi, 1998).

Il existe d'autres voies d'exposition telle que l'exposition via les poussières de maison.

#### **4.4. Caractérisation du risque**

Le risque potentiel des perturbateurs endocriniens est moins lié à la contamination d'une seule denrée alimentaire qu'à l'exposition à long terme, qu'aux impacts sur la charge corporelle totale ainsi qu'aux effets chroniques pour la santé (Baldi and Mantovani, 2008).

Les enfants peuvent être considérés comme un groupe à haut risque en raison de leur consommation relativement élevée en comparaison avec les adultes ainsi qu'au développement fonctionnel de leurs systèmes nerveux, reproductif et immunitaire (Baldi and Mantovani, 2008).

Le mélange de substances perturbant le système endocrinien dans l'environnement constitue un problème majeur pour la recherche et l'évaluation des risques. Les études toxicologiques sont typiquement basées sur l'exposition à une seule substance chimique et leurs effets, alors que les mélanges dans l'environnement ne sont pas rares (Kolpin *et al.*, 2002; cité par Hotchkiss *et al.*, 2008). Il est essentiel de développer et valider des méthodes pour prédire les effets des mélanges de substances perturbant le système endocrinien afin de protéger les hommes et le monde sauvage, et donc la biodiversité, du risque associé aux effets potentiellement cumulatifs de ces mélanges.

## 5. Les produits pharmaceutiques et les résidus de produits pharmaceutiques endocriniens

### 5.1. Identification des dangers

Chaque année, des tonnes de produits pharmaceutiques (représentés par plusieurs substances actives) sont consommées dans les hôpitaux et dans nos foyers. Depuis plusieurs années, la présence de ces produits pharmaceutiques (PP) est étudiée dans plusieurs matrices aquatiques, comme les boues brutes, les effluents des stations d'épuration, l'eau de surface, l'eau souterraine, l'eau potable et les mers (cité par Knappe, 2008). Kolpin *et al.* (2002) ont montré la présence d'une grande série de produits pharmaceutiques dans les ruisseaux aux Etats-Unis. Un tiers des substances détectées par Kolpin *et al.* (2002) sont connues ou suspectées d'avoir une activité hormonale faible avec le potentiel de perturber la fonction endocrinienne.

Plus de 150 PP ont été détectés dans différentes matrices environnementales (Gros *et al.*, 2006). Bien que ces substances soient présentes à des niveaux plutôt faibles, allant du ng/L au µg/L, leur apport continu dans le milieu aquatique peut conduire à des concentrations élevées à long terme; ce qui peut promouvoir des effets néfastes pour l'homme ainsi que pour les organismes non cibles (Gros *et al.*, 2006).

Parmi les produits pharmaceutiques trouvés dans l'environnement, on peut citer des œstrogènes, des stéroïdes androgènes, des antibiotiques, des β-bloquants, des antiépileptiques, et des agents régulant les lipides (Hotchkiss *et al.*, 2008). La présence de certains produits pharmaceutiques trouvés dans l'environnement a été mise en relation avec des effets néfastes dans le monde sauvage (ex. infertilité chez plusieurs espèces de poissons).

En Europe, les œstrogènes synthétiques sont présents dans les effluents et dans les eaux de surface à des concentrations entre 0,55 et 7 ng/L et dans certains cas jusque 50 ng/L (cité par Nash *et al.*, 2004). Il ressort de l'analyse de 139 cours d'eau effectuée aux Etats-Unis que 5,7% de ceux-ci ont des concentrations en œstrogènes synthétiques supérieures à 5 ng/L (Kolpin *et al.*, 2002).

Les hormones synthétiques telles que l'éthinylœstradiol, diéthylstilbestrol et mestrol sont ou ont été utilisées soit comme agent contraceptif, comme anti-abortif ou comme anabolisants. Le diéthylstilbestrol a été utilisé en production de viande bovine. Des hormones synthétiques ont été détectées dans certains échantillons environnementaux. L'eau de rivière aux Pays-Bas contenait 0,3 ng/L éthinylœstradiol (Miyamoto and Klein, 1998). Une étude en Allemagne des eaux de rivières a montré que celles-ci contenaient de 1 - 4 ng/L d'éthinylœstradiol (Miyamoto and Klein, 1998).

Le DES (diéthylstilbestrol) est probablement l'œstrogène synthétique le plus étudié pour ses impacts sur la santé humaine. Le DES a été synthétisé dans les années 1930 comme premier œstrogène de synthèse et a été utilisé jusqu'aux années 70. Son indication principale était de diminuer le risque de fausses couches pendant la grossesse. Les effets néfastes du DES sont devenus manifestes au début des années 70 et le médicament a été banni par la FDA en 1971 (cité par Piva and Martini, 1998).

### 5.2. Caractérisation des dangers

La plupart des effets des perturbateurs endocriniens chez l'homme sont dus à une exposition professionnelle ou à un usage pharmaceutique (Hotchkiss *et al.*, 2008).

Les œstrogènes stéroïdes naturels contrôlent la différenciation sexuelle et/ou le développement chez les vertébrés et sont de puissants modulateurs du développement et de la capacité sexuelle (cité par Nash *et al.*, 2004). Les œstrogènes stéroïdes dans les effluents

des stations d'épurations sont tenus pour responsables ou contribuent à la féminisation chez certains poissons sauvages (cité par Nash *et al.*, 2004).

Les dérivés du stilbène contenant 2 groupes hydroxyl en position para sont connus pour produire une activité œstrogène quand ils sont administrés par injection sous-cutanée à des rats ovariectomisés. Le diéthylstilbestrol est le premier de la série des composés œstrogènes de synthèse employés plus tard en thérapie (ex. d'autres puissants œstrogènes; hexestrol, E,E-dienestrol) (cité par Preziosi, 1998).

L'exposition *in utero* au diéthylstilbestrol (DES) altère le développement du système reproducteur (Hotchkiss *et al.*, 2008). Un rapport a associé l'exposition *in utero* au DES avec des adénocarcinomes à cellules claires du vagin, une forme rare de cancer du système reproducteur, chez un petit nombre (~ 0,1%) de filles des femmes ayant pris du DES pendant leur grossesse (cité par Henley and Korach, 2006). Des études ont rapporté des effets tératogènes multiples attribuables à une exposition prénatale (cité par Henley and Korach, 2006). Des malformations anatomiques du col de l'utérus, du vagin et de l'utérus, ainsi qu'une diminution de la fertilité (Hotchkiss *et al.*, 2008) ont été rapportées chez des femmes exposées au DES *in utero* (cité par Henley and Korach, 2006). Bien qu'une augmentation du risque de cancer n'ait pas été observée chez des hommes exposés au DES, plusieurs effets tératogènes ont été rapportés dans le système reproducteur mâle, incluant hypoplasie testiculaire, le cryptorchidisme et des kystes épидидymales (cité par Henley and Korach, 2006; Hotchkiss *et al.*, 2008).

Des études chez les rongeurs proposent que l'acide 4,4'-diaminostilbène-2,2'-disulfonique (DAS) soit considéré comme ayant une activité œstrogène (Hotchkiss *et al.*, 2008).

La 17  $\beta$ -trenbolone et son métabolite principal chez le bovin la 17 $\alpha$ -trenbolone ont été détectés dans des échantillons d'eau provenant d'effluents d'unités de production de bovins. Ces substances ont une activité androgène *in vitro* (moindre pour le métabolite) (Hotchkiss *et al.*, 2008).

### **5.3. Estimation de l'exposition**

L'exposition aux produits pharmaceutiques peut se faire par voie directe (ingestion de médicaments) et par voie indirecte (exposition via l'ingestion de denrées alimentaires contaminées). On manque d'informations précises sur l'estimation de l'exposition de la population belge aux résidus de produits pharmaceutiques (voie d'exposition indirecte). Une estimation de l'exposition à l'éthinylœstradiol (constituant de contraceptifs oraux) par voie directe et indirecte est présentée à titre d'illustration à l'annexe 5.

### **5.4. Caractérisation du risque**

Une étude plus poussée de la caractérisation du risque a été réalisée pour l'éthinylœstradiol (voir fiche en annexe).

## 6. Analyse des fiches

Le Comité scientifique a effectué une analyse de risques plus approfondie pour 4 perturbateurs endocriniens susceptibles d'être présents dans la chaîne alimentaire, à savoir la génistéine (annexe 2), le DDT et ses métabolites (annexe 3), le bisphénol A (annexe 4) et l'éthinylœstradiol (annexe 5). Les effets œstrogènes (affinité relative aux récepteurs et activité utérotrrophique) et l'ingestion journalière estimée par rapport à la dose journalière tolérable (Tolerable Daily Intake, TDI) de ces 4 composés ont été comparés en vue d'établir un ordre de priorité (tableau 1).

Tableau 1: Effets œstrogènes (affinité relative, par rapport au 17 β-œstradiol, vis-à-vis des récepteurs, et activité utérotrrophique) et pourcentage de la TDI pour la génistéine, le DDT, le bisphénol A et l'éthinylœstradiol.

	Genistéine	DDT	Bisphenol A	Ethinylœstradiol
Relative binding affinity	$10^{-2} - 10^{-5}$	$10^{-3}$	$10^{-3} - 10^{-5}$	1
Rat uterotrophic Assay	35 mg/kg/day**	- ***	300 mg kg/day**	0,3 - 1 µg/kg/day**
%TDI*	0,16 – 83,3	0,05 – 12,9	0,016-26	0,09

\* rapport (exprimé en %) entre l'ingestion journalière estimée et la TDI

\*\* Kim *et al.*, 2005

\*\*\* Pas d'effet aux concentrations de 100 à 500 mg/kg/jour (Kim *et al.*, 2005)

Il ressort de ce tableau que logiquement, l'éthinylœstradiol présente l'activité œstrogène la plus élevée, aussi bien en ce qui concerne son activité *in vitro* (affinité pour le récepteur ER) que son activité *in vivo* (augmentation du poids utérin chez le rat).

Pour la génistéine et le bisphénol A, on constate une cohérence de résultat entre leur activité œstrogène mesurée *in vitro* et *in vivo*, ce qui n'est pas le cas pour le DDT. Alors que le DDT semble se lier au récepteur des hormones œstrogènes, il ne montre pas d'activité œstrogène chez le rat, dans le test utérotrrophique.

Sur base des tests *in vivo*, les molécules étudiées se classent de la manière suivante en ce qui concerne leur activité œstrogène : Éthinylœstradiol > Génistéine > Bisphénol A > DDT.

En terme de quantité ingérée par rapport à la dose journalière tolérable, la génistéine arrive en tête, ce qui souligne l'importance de surveiller ce composé (et molécules apparentées) plus particulièrement.

## 7. Conclusions et recommandations

### 7.1. Conclusions générales

En raison des lacunes existant actuellement dans l'évaluation des risques et des effets potentiels sévères liés aux perturbateurs endocriniens, le principe de précaution devrait être d'application.

Le Comité scientifique soutient les initiatives en vue de revoir les autorisations des molécules de synthèse (ex. pesticides) en tenant compte des effets perturbateurs endocriniens.

Le Comité scientifique recommande d'étendre les études relatives aux effets perturbateurs endocriniens à d'autres substances dont la toxicité n'a pas été suffisamment évaluée (programme REACH).



## 7.2. Recommandations

### Recommandations pour le programme de contrôle de l'AFSCA:

Le Comité scientifique recommande de contrôler la présence de phyto-œstrogènes et plus particulièrement les isoflavones telles que la génistéine, la daidzéine et la glycitéine dans les aliments à risque (ex. novel food enrichis) et dans compléments alimentaires.

Les contrôles devraient en outre permettre de vérifier la bonne application des exigences de l'arrêté ministériel du 28/02/2005<sup>4</sup>.

Le Comité scientifique estime, en effet, qu'il est important de limiter la quantité de phyto-œstrogènes dans les aliments destinés aux groupes à risques telle que les femmes enceintes, les jeunes enfants et les végétariens.

### Recommandations pour la recherche:

Il serait opportun de réaliser une analyse coût-bénéfice du contrôle de la présence de phyto-œstrogènes dans les aliments.

Le Comité scientifique recommande également de réaliser une estimation de l'exposition de la population belge et plus particulièrement des groupes à risques (femmes enceintes, jeunes enfants et végétariens) aux phyto-œstrogènes via l'alimentation et la consommation de compléments alimentaires.

Le Comité scientifique recommande de suivre l'évolution des produits pharmaceutiques et autres perturbateurs endocriniens dans l'environnement et dans la chaîne alimentaire afin de pouvoir prendre des mesures adéquates en temps opportun.

Pour le Comité scientifique,

Le Président,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert

Bruxelles, le 09/10/2009

---

<sup>4</sup> Arrêté ministériel modifiant l'annexe de l'arrêté royal du 29 août 1997 relatif à la fabrication et au commerce de denrées alimentaires composées ou contenant des plantes ou préparations de plantes

## Références

- AFSSA. 2005. Sécurité et bénéfices des phyto-œstrogènes apportés par l'alimentation – Recommandations. AFSSA (Agence Française de sécurité sanitaire des aliments), Mars 2005.  
<http://www.afssa.fr/Object.asp?IdObj=28496&Pge=0&CCH=060717171637:26:4&cwSID=1ADC3134A7C94DB1981464078436CD48&AID=0>.
- Andersen, Markham K R. 2006. Flavanoids in foods in Flavanoids, Chemistry, Biochemistry and Applications.
- Anonyme. Projet de révision de la directive 91/414.  
[http://www.kemi.se/upload/Bekampningsmedel/Docs\\_eng/SE\\_positionpapper\\_annenII\\_sep08.pdf](http://www.kemi.se/upload/Bekampningsmedel/Docs_eng/SE_positionpapper_annenII_sep08.pdf)
- Arao Y, Kanamori N, Kikkawa E, Otsuka H, Arimoto Y, Ikeda K, Inakuma T, Kayama F. 2007. A two-step screening method, using estrogen receptor-mediated transactivation, to measure estrogenicity in edible plants. *Food Chem.*, 104, 1288–1294.
- Baldi F, Mantovani A. 2008. A new database for food safety: EDID (Endocrine disrupting chemicals -Diet Interaction Database). *Ann Ist Super Sanità*, 44 (1), 57-63.
- BfR 2007. Isolated isoflavones are not without risk. BfR expert opinion No 039/2007.
- BfR 2009. BfR evaluates study results for mineral water samples with hormone-like activity BfR Opinion No. 008/2009, 25 March 2009.
- Blitz CL, Murphy SP, Lyn D. 2007. Adding lignan values to a food composition database. *Food Comp. Ana.*, 20, 99–105.
- Bolle P, Mastrangelo S, Perrone F, Evandri MG. 2007. Estrogen-like effect of a *Cimicifuga racemosa* extract sub-fraction as assessed by in vivo, ex vivo and in vitro assays. *J. Steroid Biochem. & Molec. Biol.*, 107, 262–269.
- Borrelli F, Izzo AA, Ernst E. 2003. Pharmacological effects of *Cimicifuga racemosa*. *Life Scie.*, 73, 1215–1229.
- Calafat AM, Ye X, Wong L-Y, Reidy JA, Needham LL. 2008a. Exposure of the US population to bisphénol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ. Health Perspect.*, 116 (1), 39-44.
- Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. 2008b. Urinary Concentrations of Triclosan in the US Population: 2003-2004. *Environ. Health Perspect.*, 116 (3), 303-307.
- Carou ME, Sdeguiz ML, Reynoso B. 2009. Impact of UV-Filter 4-(Methylbenzylidene)-camphor (4-MBC) during prenatal development in the neuroendocrine regulation of gonadal axis in male and female adult rats. *Environ. Toxicol. and Pharmacol.*, 27 (3), 410-414.
- Cederroth CR, Nef S. 2009. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 304 (1-2), 30-42.
- Chadwick LR, Pauli GF, Farnsworth NR. 2006. The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties. *Phytomedicine* 13, 119–131.
- Clode SA. 2006. Assessment of *in vivo* assays for endocrine disruption. *Best Practice Research Clin. Endocrinol. Metabol.*, 20 (1), 35-43.
- Courant F. 2007. Caractérisation de l'exposition de l'enfant prépubère aux hormones stéroïdes gonadiques. Thèse de doctorat. Université de Nantes, Faculté des sciences et des techniques.
- Courant F, Antignac J-P, Maume D, Monteau F, Andre F, Le Bizec B. 2007. Determination of naturally occurring oestrogens and androgens in retail samples of milk and eggs. *Food Add. Contam.*, 24 (12), 1358–1366.
- Darbre PD, Harvey PW, 2008 Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks. *J. Appl. Toxicol.*, 28 (5), 561-78.

Duquesnoy N. 2005. Les substances naturelles à effet œstrogénique dans l'alimentation des ruminants: revue de la littérature. *Ann. Méd. Vét.*, 149, 202-212.

EC, 1999. Community Strategy for Endocrine Disrupters a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife Communication from the Commission to the council and the European Parliament. COM (1999) 706 final.

EPA 2009. Endocrine Disruptor Screening program (EDSP): <http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/pubs/assayvalidation/index.htm>

FSA. 2003. Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Product and the Environment. Phytoestrogens and health. COT Report.

Gros M, Petrovic M, Barcelo D, 2006. Multi-residue analytical methods using LC-tandem MS for the determination of pharmaceuticals in environmental and waste water samples: a review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 386 (4), 941-952.

Gry J, Black L, Eriksen FD, Pilegaard K, Plumb J, Rhodes M, Sheehan D, Kiely M, Kroon PA. 2007. EuroFIR-BASIS : a combined composition and biological activity database for bioactive compounds in plant-based foods. *Trends Food Sci. Technol.*, 18, 433-444.

Henley DV, Korach KS. 2006. Endocrine –disrupting chemicals use distinct mechanisms of action to modulate endocrine system function. *Endocrinology*, 147 (6), 25-32.

Hotchkiss AK, Rider CV, Blystone CR, Wilson VS, Hartig PC, Ankley GT, Foster PM, Gray CL, Gray LE. 2008. Review Fifteen Years after “Wingspread”—Environmental Endocrine Disrupters and Human and Wildlife Health: Where We are Today and Where We Need to Go. *Toxicol. Sci.*, 105 (2), 235–259.

Huet MC. 2000. OECD Activity on Endocrine Disrupters Test Guidelines Development. *Ecotoxicol.*, 9 (1-2), 77-84.

Ibarluzea J, Fernández M F, Santa-Marina L, Olea-Serrano M F, Rivas A M, Aurrekoetxea J J, Expósito J, Lorenzo M, Torné P, Villalobos M, Pedraza V, Sasco A J, Olea N. 2004. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens. *Cancer Causes and Control* 15, 591 – 600.

Kim H. S., Kang T.S., Kang I.H., Kim T.S., Moon H.J., KIM I.Y., Park K.L., Lee B.M., Yoo S.D., Han S.Y. 2005. Validation study of OECD rodent uterotrophic assay for the assessment of estrogenic activity in Sprague-Dawley immature female rats. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 68 (23-24), 2249-62.

Knappe (Knowledge and Need Assessment on Pharmaceutical Products in Environmental Waters), 2008. Deliverable number : D1.1: “List of the relevant PPs”. Sixth Framework Programme, pp.63.

Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman E M, Zaugg SD, Barber L. 2002. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.*, 36 (6), 1202-1211.

Kuhnle G. G. C., Dell’Aquila C., Aspinall S. M., Runswick S. A., Mulligan A. A., Bingham S. A. 2008. Phytoestrogen Content of Foods of Animal Origin: Dairy Products, Eggs, Meat, Fish, and Seafood. *J. Agric. Food Chem*, 56, 10099–10104. Kyle AMJ, Dutie GG, 2006. Flavanoids in foods in *Flavanoids, Chemistry, Biochemistry and Applications*, Edited by Øyvind M. Andersen and Kenneth R. Markham.

Kuhnle GGC, Dell’Aquila C, Runswick SA, Bingham SA. 2009a. Variability of phytoestrogen content in foods from different sources. *Food Chem.*, 113 (4), 1184–1187.

Kuhnle GGC, dell’aquila, C, Aspinall SM, Runswick SA, Joosen AMC, Mulligan A., Bingham SA. 2009b. Phytoestrogen content of fruits and vegetables, *Food Chem.*, 116 (2), 542-554.

Li JJ, Li SA 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment. Breast cancer: evidence for xeno-oestrogen involvement in altering its incidence and risk. *Pure and Appl. Chem.*, 70, (6), 1713-1723.

Liehr JG, Somasunderam A, Roy D. 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment. Metabolism and fate of xeno-oestrogens in man. *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1747-1758.

Maghuin-Rogister G. 1991. The Residue Problem. In: « Animal Biotechnology and the Quality of Meat Production », L.O. Fiems, B.G. Cottyn and D.I. Demeyer (Eds), 1991 Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, pp 179-189.

Matthews J., Wihlen, B., Thomsen J., Gustafsson J. A. 2005. Aryl hydrocarbon receptor-mediated transcription: ligand-dependent recruitment of estrogen receptor alpha to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-responsive promoters. *Mol. Cell Biol.*, 25, 5317-5328.

Miyamoto J, Klein W. 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment Environmental exposure, specifies differences and risk assessment. *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1829-1845.

Nash JP, Kime DE, Van der Ven LTM, Wester PW, Brion F., Maack G, Stahlschmidt-Allner P, Tyler CR. 2004. Long-term exposure to environmental concentrations of the pharmaceutical ethinylœstradiol causes reproductive failure in fish. *Environm. Health Pers.*, 112 (7), 1725 – 1733.

OECD, 2000. Protocol for investigating the efficacy of the Enhanced TG 407 Test Guideline (phase 2). Rationale for the investigation, and description of the protocol (issued 4 May, 2000). Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris. [http://www.oecd.org/document/42/0,3343,en\\_2649\\_34377\\_2348650\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/42/0,3343,en_2649_34377_2348650_1_1_1_1,00.html)

Overk C R, Guo J, Chadwick L R, Lantvit D D, Minassi A, Appendino G, Chen S-N, Lankin D C, Farnsworth N R, Pauli G F, van Breemen R B, Bolton J L. 2008. In vivo estrogenic comparisons of *Trifolium pratense* (red clover) *Humulus lupulus* (hops), and the pure compounds isoxanthohumol and 8-prenylnaringenin. *Chemico-Biol. Interact.*, 176, 30–39.

Pinto B., Reali D. 2009. Screening of estrogen-like activity of mineral water stored in PET bottles. *Int.J. Hyg. Envir. Health*, 212, 228-232.

Piva F., Martini L. 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment Neurotransmitters and the control of hypophyseal gonadal functions: possible implications of endocrine disruptors. *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1647-1655.

Possemiers S. 2007. Activation of proestrogens from hops by human intestinal bacteria: conversion of isoxanthohumol into the potent phytoestrogen 8-prenylnaringenin. PhD thesis, Ghent University, Belgium.

Preziosi. 1998. Natural and Anthropogenic Environmental Oestrogens. The scientific basis for risk assessment. Endocrine disruptors as environmental signallers: an introduction, *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1617-1631.

Ritchie MR, Cummings JH, Morton MS, Michael Steel C, Bolton-Smith C, Riches AC. 2006. A newly constructed and validated isoflavone database for the assessment of total genistein and daidzein intake. *Br J. Nutr.*, 96 (1), 204-13.

SCF, 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food. SCF/CS/CNTM/PAH/29 Final

Scientific Committee on Consumer Products (SCCP), 2008. Opinion on 4-Methylbenzylidene camphor (4-MBC). SCCP/1184/08.

Scippo ML, Maghuin-Rogister G, 2007. Les perturbateurs endocriniens dans l'alimentation humaine: impact potentiel sur la santé. *Ann. Méd. Vét.*, 151 (1), 44-54.

Sekizawa J. 2008. Low-dose effects of bisphénol A: a serious threat to human health?. *J. Toxicol. Sci.*, 33 (4), 389-403.

Sharpe RM. 1998. Natural and Anthropogenic Environmental Oestrogens. The scientific basis for risk assessment. Environmental oestrogens and male infertility. *Pure and Appl. Chem.*, 70 (9), 1685-1701.

Shipley J.M., Waxman D.J. 2006. Aryl hydrocarbon receptor-independent activation of estrogen receptor-dependent transcription by 3-methylcholanthrene, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 213, 87–97.

Stephany RW, Sterk SS, Van Ginkel LA. 2004. Tissue levels and dietary intake of endogenous steroids an overview with emphasis on 17beta-estradiol. Proceedings of the Euroresidue V Conference. Noordwijkerhout, The Netherlands 10-12 May, 111-121.

Schwartz H, Sontag G, Plumb J. 2009. Inventory of phytoestrogen databases. *Food Chem.*, 113 (3), 736-747.

Veldhoen N, Skirrow RC, Osachoff H, Wigmore H, Clapson DJ, Gunderson MP. 2006. The bactericidal agent triclosan modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquat. Toxicol.*, 80, 217–227.

Wagner M, Oehlmann J. 2009. Endocrine disruptors in bottled mineral water: Total estrogenic burden and migration from plastic bottles. *Environ. Sci. Pollut. Res.* (sous presse)

## Membres du Comité scientifique

Le Comité scientifique est composé des membres suivants :

D. Berkvens, C. Bragard, E. Daeseleire, P. Delahaut, K. Dewettinck, J. Dewulf, L. De Zutter, K. Dierick, L. Herman, A. Huyghebaert, H. Imberechts, P. Lheureux, G. Maghuin-Rogister, L. Pussemier, C. Saegerman, B. Schiffers, E. Thiry, T. van den Berg, M. Uyttendaele, C. Van Peteghem, G. Vansant

## Remerciements

Le Comité scientifique remercie le secrétariat scientifique et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis. Le groupe de travail était composé de :

Membres du Comité scientifique	G. Maghuin-Rogister (rapporteur), P. Delahaut, A. Huyghebaert, L. Pussemier, B. Schiffers, C. Van Peteghem, G. Vansant
Experts externes	P. Daenens (K. U. Leuven), B. De Meulenaer (UGent), L. Goeyens (VUB), G. Hennen (ULg), M-L. Scippo (ULg), M. Tits (ULg)

## Cadre juridique de l'avis

Loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, notamment l'article 8 ;

Arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 27 mars 2006.

## Disclaimer

Le Comité scientifique conserve à tout moment le droit de modifier cet avis si de nouvelles informations et données arrivent à sa disposition après la publication de cette version.

## **Annexes:**

### **Liste des annexes**

Annexe 1 : Principales substances naturelles connues pour leurs effets œstrogènes

Annexe 2 : fiches Genistein

Annexe 3 : fiche DDT

Annexe 4 : fiche Bisphenol A

Annexe 5 : fiche Ethinylœstradiol