

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 21 novembre 2019

AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à l'évaluation des substances inscrites au programme de travail 2018 de l'Agence dans le cadre de la Stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens (SNPE) :

Bisphénol B (CAS 77-40-7)

HHCB (CAS 1222-05-5)

TNPP (EC 701-028-2)

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Certaines substances sont susceptibles d'entraîner des effets néfastes pour la santé humaine et l'environnement *via* une perturbation du système hormonal. La Stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens (SNPE) adoptée en 2014 pour une durée de trois ans, s'articulait autour des axes suivants : la pérennisation du soutien à la recherche sur les perturbateurs endocriniens (PE), la poursuite des démarches de surveillance dans la population et dans l'environnement, la mise en œuvre d'un programme d'expertise sur des substances, la prise en compte des PE dans la réglementation, notamment au niveau européen, et l'information du public. Dans ce cadre, l'Anses s'est vue confier le soin d'expertiser au moins cinq substances par an.

Le Plan national santé environnement (PNSE3) 2015-2019 se donne pour ambition de contribuer à la mise œuvre de la SNPE et prévoit notamment de confier à l'Anses à l'action n°14 la charge « d'évaluer de manière plus précise et ciblée, le danger et l'exposition des populations et de l'environnement à certaines substances PE pour mieux les gérer ».

A l'issue d'une consultation du comité d'orientation thématique « santé environnement » organisée par l'Anses le 12 octobre 2017, les ministères de tutelle ont demandé à l'agence d'évaluer en 2018 plusieurs substances incluant le bisphénol B (BPB), le résorcinol, le TNPP et le HHCB, en vue d'identifier leurs éventuels effets néfastes pour la santé de l'Homme et des espèces présentes dans l'environnement, en lien avec une perturbation endocrinienne. En cas de dangers avérés, l'Anses devait proposer des mesures de gestion des risques dans le cadre des réglementations

européennes adaptées (REACH¹, Biocides², Produits phytopharmaceutiques³, Produits cosmétiques⁴ ou toute autre réglementation pertinente).

Le résorcinol a fait l'objet d'une analyse des meilleures options de gestion réglementaires (*Regulatory management options analysis* (RMOA)) par la Finlande, dont les conclusions ont été publiées le 17 mai 2018. Le potentiel PE (pour l'Homme et pour l'environnement) du résorcinol a été reconnu. Par conséquent, l'Anses a initié un dossier au format annexe XV afin d'identifier la substance comme très préoccupante (SVHC) selon les termes de l'article 57(f) du règlement REACH. Ces travaux feront l'objet d'un avis de l'Agence dédié.

En conséquence, cet avis se concentre sur les substances suivantes :

- Bisphénol B (CAS No 77-40-7) ;
- HHCB (CAS No 1222-05-5) ;
- TNPP (EC No 701-028-2)⁵.

L'Anses a ainsi réalisé pour ces trois substances une évaluation en s'appuyant sur le format d'analyse des meilleures options de gestion réglementaires (RMOA), suivant la procédure en vigueur utilisée par l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) et les Etats membres de l'Union européenne pour présenter l'évaluation effectuée sur ces substances. Cette analyse s'est focalisée sur les propriétés de perturbation endocrinienne et sur le caractère PBT⁶ de ces substances.

Le présent avis a pour objet de résumer les principales étapes de l'analyse et les conclusions issues de l'expertise.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

Organisation générale

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise - Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques via le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

¹ REACH règlement CE/1907/2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances

² Règlement des produits biocides N°528/2012

³ Règlement (CE) N°1107/2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques

⁴ Règlement (CE) Cosmétique N°1223/2009 du 30 Novembre 2009

⁵ Cette substance de composition complexe ne dispose pas de numéro CAS.

⁶ Persistant, bioaccumulable et toxique.

Démarche des travaux d'expertise

L'évaluation des substances s'est appuyée sur les données disponibles dans les dossiers d'enregistrement déposés par les industriels auprès de l'ECHA en application du règlement REACH, dans le rapport sur la sécurité chimique (CSR) du dossier d'enregistrement et sur les données de la littérature scientifique.

Les rapports au format RMOA ont été préparés par la Direction de l'évaluation des risques (DER) avec l'appui du groupe de travail (GT) « perturbateurs endocriniens » (« GT PE ») et ont été validés par le comité d'experts spécialisé (CES) « Évaluation des risques liés aux substances chimiques dans le cadre de la mise en œuvre du règlement REACH » (« CES REACH-CLP »).

Après consultations du GT PE et du groupe d'experts sur les PE (EDEG⁷) de l'ECHA, et sur la base des rapports validés par le CES REACH, l'Anses émet le présent avis.

3. ANALYSE DES SUBSTANCES

3.1. Le Bisphénol B (CAS No 77-40-7)

Le bisphénol B (BPB) peut être utilisé dans la fabrication de résines phénoliques et de polycarbonates. En outre, le BPB peut être contenu dans des revêtements en résine utilisés comme inhibiteurs de corrosion dans les boîtes de conserve dans l'industrie alimentaire. Le BPB n'est actuellement pas enregistré dans le cadre du règlement REACH, indiquant l'absence d'usages déclarés dans l'Union européenne. Cependant, cette substance peut constituer une alternative à certains usages du bisphénol A (BPA) et du bisphénol S (BPS) comme l'illustre son enregistrement par la *Food and Drug Administration* (FDA) aux États-Unis, en tant qu'additif indirect utilisé dans certains revêtements (en résine) et polymères en contact avec les aliments.

Données *in vitro* (OCDE niveau 2)

L'activité œstrogénique *in vitro* du BPB a été évaluée en détail⁸. Les données évaluées montrent que la substance se lie aux récepteurs des œstrogènes et provoque notamment une induction de la voie des œstrogènes avec une puissance similaire ou supérieure à celle du BPA. Bien que moins étudiés, les résultats sur la voie de signalisation du récepteur des androgènes (AR) indiquent que le BPB peut se lier et induire une réponse anti-androgène dans la plupart des lignées cellulaires de vertébrés. De plus, il a été démontré que le BPB interfère avec la stéroïdogénèse, entraînant une diminution des concentrations de testostérone et de cortisol et une augmentation des concentrations d'œstrone. En revanche, les informations sur la voie thyroïdienne sont rares et ne permettent pas de tirer des conclusions définitives pour cette voie.

D'autres études suggèrent la capacité du BPB à interférer avec d'autres cibles, telles que les récepteurs au glucocorticoïde (GR), à la progestérone (PR), au pregnane X receptor (PXR), à la protéine de transport des hormones sexuelles (sex hormone binding globuline ou SHBG), ou avec la production d'adiponectine.

⁷ <http://echa.europa.eu/addressing-chemicals-of-concern/substances-of-potential-concern/endocrine-disruptor-expert-group>

⁸ Serra H *et al* (2019). Evidence for Bisphenol B Endocrine Properties: Scientific and Regulatory Perspectives. *Environmental Health Perspectives* Vol. 127, No. 10.

Données *in vivo* (OCDE niveau 3-4)

Sur le plan mécanistique, des études ont examiné l'activité œstrogénique du BPB chez le rongeur (test utéro-trophique) et le poisson (expression génique dans le foie et le cerveau de poisson medaka mâle) et ont confirmé l'activité œstrogénique du BPB observée *in vitro*. En ce qui concerne la voie des androgènes, un test de Hershberger montre une activité anti-androgène de la substance. Les résultats suggèrent que le BPB est capable de promouvoir la réponse au propionate de testostérone sans explication notoire. Afin de pouvoir tirer des conclusions définitives, des études supplémentaires évaluant l'effet anti-androgène du BPB sont nécessaires.

Trois études ont étudié les effets indésirables du BPB chez les vertébrés : deux études sur des rongeurs et une sur des poissons. Elles ont toutes mis en évidence des effets du BPB sur le système reproducteur masculin (spermatogenèse altérée) et des modifications des taux d'hormones (diminution de testostérone et augmentation de l'œstradiol). Chez le poisson-zèbre, une diminution de la fécondité des poissons a été observée à la concentration la plus élevée testée de BPB, ainsi qu'une réduction du nombre d'œufs, du taux d'éclosion et de la survie des larves.

Deux études récentes sur rongeurs ont étudié l'effet du BPB sur la fonction testiculaire à l'aide de méthodes *in vitro* et *in vivo*. L'étude de Ullah et al. (2018a) rapporte les effets du BPA et de trois de ses analogues (BPB, BPF et BPS) sur les fonctions testiculaires de rat mâle adulte (Sprague-Dawley) en utilisant des approches *in vitro* et *in vivo*. Cette étude suggère que le BPB réduit la production de testostérone dans les testicules à partir de la plus faible dose testée (5 mg/kg pc/jour) et modifie la spermatogenèse à 50 mg/kg pc/jour chez le rat adulte. Ceci peut être le résultat, au moins en partie, d'une augmentation du stress oxydatif.

La seconde étude d'Ullah et al. (2018b) rapporte des effets sur la fonction testiculaire suite à une exposition chronique à de faibles doses de BPA et de plusieurs de ses analogues (BPB, BPF et BPS) administrés dans l'eau de boisson chez le rat adulte. Ces effets hormonaux et histologiques concordent avec certains des effets anti-androgènes observés chez les animaux castrés traités avec du BPB dans le test de Hershberger. Les fonctions testiculaires endocrines et autocrines / paracrines ont été altérées. Le BPB agit sur le système hypothalamo-hypophysaire gonadotrope. Les modifications induites par le BPB dans la production hormonale testiculaire observées dans cette étude sont similaires à celles observées *in vitro* (Wang et al. 2014, Rosenmai et al. 2014). Enfin, le BPB et le BPA ont montré dans cette étude les mêmes effets qualitatifs et quantitatifs.

Une troisième étude, Yang et al. (2017), réalisée selon la ligne directrice 230 de l'OCDE, rapporte les résultats du test de fécondité sur le poisson zèbre. Une exposition pendant 21 jours à une concentration de 1 mg/L de BPB a altéré la fonction de reproduction, réduisant le nombre d'œufs, le taux d'éclosion et la survie des larves (génération F1). Ces altérations étaient associées à une malformation du testicule et de l'ovaire, à une modification des taux de testostérone et œstradiol et à une altération de l'expression de gènes clés impliqués dans l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadique et de la stéroïdogenèse. Les altérations des gènes et des niveaux d'hormones étaient plus importantes chez les poissons mâles que chez les poissons femelles. En outre, l'expression de la vitellogénine hépatique a été régulée positivement chez les poissons-zèbres mâles exposés à partir de 0,1 mg/L, ce qui indique que le BPB possède une activité œstrogénique. L'augmentation de la vitellogénine observée est cohérente avec celle rapportée dans le poisson medaka après une exposition à court terme au BPB (Yamaguchi et al., 2015).

Comparaison avec le BPA :

A chaque fois que le BPB et le BPA ont été testés dans la même étude *in vitro*, le BPB a eu des effets similaires ou même plus marqués que ceux dus au BPA, en particulier en ce qui concerne l'activité œstrogénique. Dans les études *in vivo* chez le rat mâle adulte (Ullah et al.), le BPB diminue

le poids des vésicules séminales et de l'épididyme, une réduction de la hauteur de l'épithélium séminifère, du nombre de spermatoocytes et de spermatoïdes. Ces changements étaient similaires, voire légèrement plus prononcés, par rapport au même traitement avec le BPA (Ullah et al. 2018b, Ullah et al. 2018a).

Bien qu'aucune étude n'ait comparé les effets indésirables du BPA et du BPB chez les poissons dans une même expérimentation, les propriétés de perturbation endocrinienne du BPA ont été examinées récemment pour l'identification du BPA comme perturbateur endocrinien pour l'environnement (Agence européenne des produits chimiques 2017)⁹. Le dossier a notamment rapporté une activité agoniste oestrogénique du BPA chez le poisson. Cette activité est également démontrée avec le BPB par l'induction de vitellogénine chez les poissons mâles (Yamaguchi et al., 2015 ; Yang et al., 2017). Les poissons zèbres exposés au BPA avaient une production d'œufs et un taux d'éclosion plus faible et une diminution de la survie des embryons (Segner et coll., 2003, Chen et al., 2017). De plus, l'exposition au BPA entraîne une diminution du volume et/ou de la motilité des spermatozoïdes chez les poissons zèbres adultes (Chen et al., 2017), la truite brune (Lahnsteiner et al., 2005) et le poisson rouge (Hatef et al., 2012), et une diminution du nombre de spermatozoïde chez le poisson medaka japonais (Metcalf et al., 2001). L'ensemble de ces données renforce la probabilité d'obtenir des effets similaires entre le BPA et le BPB chez le poisson.

Conclusions sur les propriétés de perturbation endocrinienne

L'analyse des données disponibles sur l'activité endocrine du BPB, chez différentes espèces de vertébrés, fournissent des preuves solides de la capacité de la substance à interférer avec la voie de signalisation des œstrogènes, à réduire la production de testostérone, à altérer la stéroïdogenèse et à modifier la spermatogénèse chez les rats et les poissons-zèbres, et la reproduction des poissons.

Sur la base de 3 études in vivo, une altération nette de la spermatogénèse avec une diminution du niveau de testostérone a été mise en évidence sur les poissons et les rongeurs, indiquant une cohérence des effets du BPB.

Les effets indésirables de la substance sur la reproduction des poissons et la spermatogénèse chez les rongeurs et les poissons sont cohérents avec l'activité endocrinienne observée. La spermatogénèse est régulée à la fois par les androgènes et les œstrogènes, de telle sorte que des changements dans les niveaux hormonaux, dans l'expression du gène ER α ou une activité médiée par les récepteurs ER et AR peuvent entraîner une altération des fonctions de la reproduction chez l'Homme. En outre, la comparaison des activités endocriniennes dues au BPB et BPA apporte des arguments supplémentaires sur les propriétés de perturbation endocrinienne du BPB.

Le BPB n'est pas enregistré actuellement dans le cadre de la réglementation REACH. Le dossier du BPB a été discuté au groupe d'expert européen sur les perturbateurs endocriniens (EDEG n° 13)¹⁰. La plupart des experts n'étaient pas convaincus quant à la quantité et au niveau d'information disponibles pour identifier le BPB comme un PE selon l'article 57 de REACH (SVHC). La possibilité d'identifier le BPB comme un PE « présumé » (et non pas « avéré ») n'a pas été discutée dans ce groupe. L'EDEG a proposé que le RMOA soit consolidé par une approche groupée sur la famille des bisphénols, compte tenu du niveau d'information limité relatif au seul BPB. Bien que l'examen des propriétés endocriniennes du BPA dépasse le cadre du présent rapport, l'ANSES a pris en considération les résultats obtenus avec le BPA. L'altération du système reproducteur mâle observée chez les poissons et les rats est également rapportée avec le BPA. De plus, les données

⁹ <https://echa.europa.eu/documents/10162/769b2777-19cd-9fff-33c4-54fe6d8290d5>.

¹⁰ <https://echa.europa.eu/fr/endocrine-disruptor-expert-group>.

existantes sur l'activité oestrogénique du BPB et l'inhibition de la production de testostérone sont compatibles et cohérentes avec l'activité endocrinienne dû au BPA.

Dans ce contexte, le GT PE de l'ANSES et le CES REACH-CLP de l'Anses considèrent que les données disponibles indiquent que le BPB est un perturbateur endocrinien et déconseillent l'usage du BPB en tant que substitut du BPA.

3.2. Le HHCB (CAS No 1222-05-5)

Le HHCB (ou galaxolide) est le représentant le plus important en volume des composants de parfum connus sous le nom de muscs polycycliques. Les parfums sont des mélanges complexes, préparés en mélangeant de nombreux ingrédients à différentes concentrations. La plupart de ces ingrédients sont des liquides dans lesquels du HHCB est ajouté pour ses propriétés parfumantes. Ces formulations de parfums sont utilisées dans des produits de consommation variés tels que les produits cosmétiques, les produits détergents, les assainisseurs d'air, etc.

Données *in vitro* (OCDE niveau 2)

Plusieurs études *in vitro* conduites sur plusieurs souches de cellules humaines avec ou sans transfection avec ESR1¹¹ ou ESR2¹² humains ont montré une capacité de la substance à modifier la transcription et la capacité de liaison aux récepteurs ER, pouvant conduire à des effets agonistes ou antagonistes suivant les conditions expérimentales : un effet agoniste marginal de l'HHCB est ainsi observé sur ER α , mais pas sur ER β , et une capacité à inhiber les effets des œstrogènes par ER α et ER β .

Une faible activité oestrogénique de l'HHCB a été observée sur cellules MCF7 exprimant ER α (Evans *et al.*, 2012).

Un effet antagoniste sur l'activation des récepteurs aux androgènes a été observé à fortes concentrations de HHCB par transfection stable de cellules U2OS.

Un effet antagoniste significatif de HHCB est observé sur les hAR (récepteur humain des androgènes).

Aucune activité agoniste de HHCB sur les récepteurs alpha et bêta aux hormones thyroïdiennes n'est observé par transfections stables sur cellules ovariennes de hamster chinois (Cavanagh *et al.* 2018).

Les études *in vitro* montrent que le HHCB a la capacité de modifier à la fois l'activité et l'expression de gènes impliqués dans la stéroïdogénèse. Toutefois, il convient de noter que de nombreux résultats *in vitro* ont été obtenus à des concentrations proches ou supérieures aux limites de solubilité dans l'eau (6,4 μ M), ce qui peut susciter des questions sur la validité du protocole expérimental et les réponses observées.

Le HHCB montre une capacité à activer ou au contraire à avoir un effet antagoniste pour les récepteurs nucléaires impliqués dans la stéroïdogénèse. Cependant, ces activités sont généralement faibles et observées à des concentrations élevées en HHCB. Aucune activité transcriptionnelle n'a été rapportée pour la voie du récepteur des hormones thyroïdiennes (TR).

¹¹ Gène codant pour le récepteur alpha des œstrogènes.

¹² Gène codant pour le récepteur bêta des œstrogènes.

Données *in vivo* (OCDE niveau 3)

Un test utéro-trophique sur la souris (Seinen *et al.* 1999) montre un effet œstrogénique à deux doses testées (0,6 et 40 mg/kg pc de HHCB), associé à une augmentation du poids du foie significative et proportionnelle à la dose.

Deux études mécanistiques chez les poissons ont étudié l'effet du HHCB sur la voie de signalisation ER (Schreurs *et al.* 2004, Yamauchi *et al.* 2008). L'étude de Schreurs *et al.* (2004) a montré une activité anti-œstrogénique en utilisant un modèle de poisson-zèbre transgénique juvénile, en accord avec l'activité antagoniste observée sur la transactivation de ER β de poisson-zèbre *in vitro*. Yamauchi *et al.* (2008) ont observé une induction de l'expression des gènes vtg et de la protéine vitellogénine dans le poisson médaka mâle adulte, révélatrice d'une activité œstrogénique agoniste. Ces résultats indiquent que le HHCB pourrait interférer avec la signalisation de l'ER chez les poissons, avec des activités agonistes et antagonistes pouvant varier selon les espèces ou les stades de développement.

Par ailleurs, deux études conduites sur les invertébrés indiquent que le HHCB entraîne des effets importants sur la reproduction et le développement des mollusques et des annélides testés, en montrant une diminution de la production d'œufs et du temps de maturation de la progéniture (Ramskov *et al.* 2009, Pedersen *et al.*, 2009). Ces résultats sont corroborés par les données de toxicité pour la reproduction ou le développement avec le crustacé *Arctia tonsa*, l'arthropode *Chironomus riparius* et l'annelide *Lumbriculus variegatus* fournies dans le dossier d'enregistrement REACH. L'ensemble de ces résultats indique des effets du HHCB sur le développement et la reproduction de ces groupes d'invertébrés.

Conclusions sur les propriétés de perturbation endocrinienne de l'HHCB

Les données sur les propriétés endocriniennes du HHCB chez les vertébrés se limitent à certaines études mécanistiques *in vitro* et *in vivo* (OCDE niveaux 2 et 3).

Une activité endocrinienne a été observée sur la voie ER. Plusieurs études *in vitro* rapportent une faible activité agoniste sur ER α et une activité antagoniste sur ER β . Lors d'essais menés sur des poissons sur des courtes durées d'exposition, le HHCB a induit l'expression de l'ARNm de la vitellogénine chez le poisson medaka adulte, indiquant un effet œstrogénique. En revanche, seule l'activité anti-œstrogénique du HHCB a été observée chez le poisson-zèbre transgénique (ERE-luciférase juvénile) exposé pendant 96 heures. Les résultats *in vivo* corroborent les résultats observés *in vitro* et mettent en évidence la capacité différentielle du HHCB à interférer avec la voie de signalisation ER. Malgré cette alerte, des informations sur les effets du HHCB sur la reproduction et le développement de vertébrés de niveau 4 (selon OCDE) seraient nécessaires pour tirer une conclusion définitive concernant les effets (anti)œstrogéniques du HHCB.

En ce qui concerne les autres voies de signalisation, les données disponibles ne sont pas suffisantes pour conclure. Il n'y a pas suffisamment d'informations sur la voie de signalisation AR. Les données disponibles ne montrent pas d'alerte sur la voie de signalisation TR, mais des études supplémentaires seraient nécessaires pour conclure. De plus, une alerte sur l'activité stéroïdienne a été identifiée, mais des informations complémentaires pourront être demandées au déclarant dans le cadre de l'évaluation de la substance afin de confirmer l'effet observé.

Pour ce qui concerne la toxicité des vertébrés, les informations sur la toxicité pour la reproduction et le développement sont insuffisantes. Sur la base d'une seule étude *in vivo* (test utéro-trophique) mesurant un seul effet (Seinen *et al.*, 1999), il n'est pas possible de déterminer si le HHCB présente ou non des effets indésirables sur le système endocrinien.

Contrairement aux vertébrés, la toxicité du HHCB sur la reproduction des invertébrés a été mise en évidence dans plusieurs études. Ces études mettent en évidence de possibles propriétés de perturbation endocrinienne chez les arthropodes, les annélides et les mollusques. Cependant, sur la base des études évaluées, aucun lien biologique plausible ne peut être pour le moment établi entre un mode d'action endocrinien et un effet néfaste sur la reproduction chez les invertébrés. Une telle corrélation est nécessaire pour l'identification d'une substance perturbatrice endocrinienne pour l'environnement.

Dans ce contexte, des études complémentaires sont nécessaires, en particulier sur la toxicité à long terme pour la reproduction et le développement chez les vertébrés (rongeurs et / ou poissons) et sur les mécanismes endocriniens chez les invertébrés, afin d'évaluer les propriétés de perturbation endocrinienne du HHCB.

3.3. Le TNPP (EC No 701-028-2)

Le TNPP est produit à de forts tonnages et est principalement utilisé comme antioxydant pour stabiliser les polymères contre la dégradation par les rayonnements ultra-violet, dans diverses applications.

Le TNPP est une substance complexe qui peut exister avec des chaînes alkyle linéaires et / ou ramifiées. La préoccupation du potentiel PE du TNPP est issue de la présence de 4-nonylphénol dans sa composition. Le 4-NP est une substance identifiée comme extrêmement préoccupante (SVHC) pour ses propriétés de perturbation endocrinienne pour les espèces de l'environnement¹³, et peut être présent dans le TNPP sous forme d'impureté.

Par ailleurs, des incertitudes demeurent quant au potentiel de libération de 4-NP suite à la dégradation du TNPP au cours de son cycle de vie. L'évaluation de la substance, en cours dans le cadre du règlement REACH (telle qu'inscrite au CoRAP 2013¹⁴), vise à clarifier cette préoccupation.

D'après les données enregistrées dans REACH, il existe différents grades de TNPP : une substance « pure » et une substance dite « commerciale » pouvant présenter plus de 0,1% de 4-NP en tant qu'impureté. L'évaluation de la sécurité chimique produite par les industriels dans les dossiers REACH ne décrit pas le profil de pureté du TNPP (c'est-à-dire pure ou commerciale) associée aux différents scénarios d'exposition. Le CES REACH-CLP de l'Anses note que le grade « commercial » de toutes les formes de TNPP satisfait aux critères d'identification d'une substance très préoccupante (identification SVHC) en raison de la présence de 4-NP. Sur cette base, l'identification SVHC PE du TNPP contenant plus de 0.1% de 4-NP a été proposée à l'ECHA par l'Anses et validée en juin 2019, sans statuer pour autant sur le caractère PE de la substance TNPP

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Au vu des résultats de l'expertise, portant sur trois substances inscrites au programme de travail de l'Anses pour 2018 dans le cadre de la SNPE, l'Agence émet les conclusions et recommandations suivantes:

¹³ Décision de l'Agence Européenne des produits chimiques sur l'inclusion de substances extrêmement préoccupantes dans la liste candidate à une éventuelle inclusion à l'Annexe XIV du règlement REACH. ED/169/2012. .

¹⁴<https://echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals/evaluation/community-rolling-action-plan/corap-table/-/dislist/details/0b0236e1807e7192>

▪ Le Bisphénol B

Le BPB peut être utilisé dans la fabrication de résines phénoliques et de polycarbonates, ainsi que dans des revêtements en résine utilisés dans la fabrication de boîtes de conserve. Cependant, en Europe, la substance n'est pas enregistrée dans le cadre du règlement REACH ce qui n'ouvre pas droit à son utilisation actuellement.

Les préoccupations concernant le potentiel PE du BPB ont été discutées lors de la réunion n°13 du groupe d'experts européen sur les perturbateurs endocriniens (EDEG), en novembre 2018 à Helsinki. Suite à une présentation de l'Anses, la plupart des experts ont estimé que les données étaient limitées pour ce composé et insuffisantes pour identifier à ce stade le BPB en tant que substance très préoccupante (SVHC) selon les dispositions de l'article 57 de REACH. Ils ont encouragé l'Anses à évaluer le BPB dans une approche groupée avec les autres composés de la famille des bisphénols afin de mettre en place des stratégies de gestion réglementaire efficaces et d'éviter des substitutions regrettables au sein de cette famille.

Par ailleurs, même si le BPB n'est pas encore enregistré en Europe, ce composé n'est pas considéré comme une alternative sûre au bisphénol A. Compte tenu des nombreuses données sur l'activité endocrinienne du BPB et des effets néfastes observés chez les vertébrés, l'Anses recommande d'identifier le BPB en tant que PE en conséquence de l'identification comme substance très préoccupante (SVHC) par le biais de l'article 57(f) du règlement REACH, afin que les conclusions en soient tirées quant à son éventuel emploi comme substitut du BPA.

L'Agence note que des informations sur les niveaux d'exposition au BPB en Europe sont attendues dans les prochaines années par le projet de biomonitoring européen HBM4EU¹⁵, qui inclut cette substance dans le groupe des substances prioritaires de la famille des «bisphénols».

▪ L'HHCB

L'HHCB (ou galaxolide) a fait l'objet de plusieurs évaluations par le passé (RAR 2008¹⁶, SCCNFP¹⁷ 2002), indiquant notamment que la substance peut être utilisée dans la formulation de produits cosmétiques sans restriction d'usage. Ce musc polycyclique constitue en effet un composant des parfums utilisés dans de nombreux produits de consommation, en particulier cosmétiques.

Dans le cadre de la SNPE, l'autorité compétente française a demandé à l'Anses d'évaluer les propriétés de perturbations endocrinienne de l'HHCB, en tenant compte des méthodes et des données les plus récentes.

A l'issue de cette évaluation, l'Anses estime que des études supplémentaires sont nécessaires, en particulier sur la toxicité à long terme pour la reproduction et le développement chez les vertébrés (rongeurs et / ou poissons) et sur les mécanismes endocriniens chez les invertébrés, afin de clarifier les propriétés de l'HHCB sur le développement humain.

A la suite d'une vérification de la conformité du dossier d'enregistrement (« compliance check »), l'ECHA demande aux déclarants de la substance de conduire une étude pré-natale de toxicité sur

¹⁵ <https://www.hbm4eu.eu/the-substances/bisphenols/>

¹⁶ European Union Risk Assessment Report. The Netherlands. Final version, May 2008.

¹⁷ SCCNFP (2002), OPINION OF THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS adopted by the SCCNFP during the 21st plenary meeting of 17 September 2002.

le développement chez le lapin (OCDE 414) et une étude étendue de toxicité pour la reproduction sur une génération chez le rat (OCDE 443), en incluant les cohortes 1A et 1B (avec extension sur deux générations (F2)). Ces études devraient fournir des informations utiles pour évaluer les effets de perturbation endocrinienne à long terme chez l'homme. En fonction des résultats ces deux études, d'autres études complémentaires pourraient être envisagées. En outre, des travaux supplémentaires dans le cadre de la procédure d'évaluation de substance apparaissent nécessaires pour clarifier les préoccupations concernant les effets endocriniens chez les espèces de l'environnement (notamment le poisson).

▪ **Le TNPP**

Le TNPP est une substance complexe produite à de forts tonnages et est principalement utilisé comme antioxydant pour stabiliser les polymères contre la dégradation. Le 4-nonylphénol (4-NP), substance identifiée comme très préoccupante (SVHC) pour ses propriétés de perturbation endocrinienne chez des espèces de l'environnement, peut être présent dans le TNPP sous forme d'impureté.

D'après les données enregistrées dans REACH, il existe différents grades de TNPP : une substance « pure » et une substance dite « commerciale » pouvant présenter plus de 0,1% de 4-NP en tant qu'impureté. L'évaluation de la sécurité chimique produite par les industriels dans les dossiers REACH ne décrit pas le profil de pureté du TNPP (c'est-à-dire pure ou commerciale) associée aux différents scénarios d'exposition. En conséquence, compte tenu des tonnages produits, des utilisations dispersives attendues et de la présence d'un composé très préoccupant à plus de 0,1% en concentration (pour le grade « commercial »), l'Anses a jugé nécessaire d'identifier le grade « commercial » de toutes les formes de TNPP comme très préoccupant (identification PE), avant même la fin de la procédure d'évaluation de substance en cours d'instruction.

En parallèle, l'évaluation de la substance TNPP se poursuit pour clarifier les préoccupations résiduelles sur les autres grades de la substance (y-compris « pure »). A l'issue de la procédure et en fonction des données complémentaires obtenues, la caractérisation PE pourra être établie pour les autres grades de TNPP mis sur le marché.

▪ **Le résorcinol (pour mémoire)**

Le résorcinol a fait l'objet d'une analyse des meilleures options de gestion réglementaires (Regulatory management options analysis (RMOA)) par la Finlande, dont les conclusions ont été publiées le 17 mai 2018. Le potentiel PE (pour l'Homme et pour l'environnement) du résorcinol via ses effets sur la thyroïde a été reconnu. Par conséquent, l'Anses a initié un dossier afin d'identifier la substance comme très préoccupante (SVHC) selon les termes de l'article 57(f) du règlement REACH. Ce dossier est prévu pour être déposé à l'Agence européenne des produits chimiques en février 2020.

Dr Roger GENET

MOTS-CLES

Bisphénol B, HHCB, TNPP, résorcinol, REACH, Perturbateur endocrinien, RMOA

REFERENCES

- Cavanagh, J. E., K. Trought, C. Mitchell, G. Northcott, and L. A. Tremblay. 2018. "Assessment of endocrine disruption and oxidative potential of bisphenol-A, triclosan, nonylphenol, diethylhexyl phthalate, galaxolide, and carbamazepine, common contaminants of municipal biosolids." *Toxicol In Vitro* 48:342-349. doi: 10.1016/j.tiv.2018.02.003.
- Chen, Jiangfei, Katerine S Sali, Yueqin Liu, Lelin Li, Yuxin Zhao, Yinhang Jia, Chenglian Bai, Robert L Tanguay, Qiaoxiang Dong, and Changjiang Huang. 2017. "Developmental bisphenol A exposure impairs sperm function and reproduction in zebrafish." *Chemosphere* 169:262-270.
- Evans, R. M., M. Scholze, and A. Kortenkamp. 2012. "Additive mixture effects of estrogenic chemicals in human cell-based assays can be influenced by inclusion of chemicals with differing effect profiles." *PLoS ONE* 7 (8). doi: 10.1371/journal.pone.0043606.
- Hatef, Azadeh, Sayyed Mohammad Hadi Alavi, Abdulbaset Abdulfatah, Pascal Fontaine, Marek Rodina, and Otomar Linhart. 2012. "Adverse effects of bisphenol A on reproductive physiology in male goldfish at environmentally relevant concentrations." *Ecotoxicology and environmental safety* 76:56-62.
- Lahnsteiner, Franz, Beate Berger, Manfred Kletzl, and Thomas Weismann. 2005. "Effect of bisphenol A on maturation and quality of semen and eggs in the brown trout, *Salmo trutta f. fario*." *Aquatic Toxicology* 75 (3):213-224.
- Metcalfe, Chris D., Tracy L. Metcalfe, Yiannis Kiparissis, Brenda G. Koenig, Colin Khan, Richard J. Hughes, Timothy R. Croley, Raymond E. March, and Thomas Potter. 2001. "Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*)." *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (2):297-308. doi: 10.1002/etc.5620200210.
- Pedersen, S., H. Selck, D. Salvito, and V. Forbes. 2009. "Effects of the polycyclic musk HHCB on individual- and population-level endpoints in *Potamopyrgus antipodarum*." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 (4):1190-1199. doi: 10.1016/j.ecoenv.2008.10.012.
- Ramskov, T., H. Selck, D. Salvito, and V. E. Forbes. 2009. "INDIVIDUAL- AND POPULATION-LEVEL EFFECTS OF THE SYNTHETIC MUSK, HHCB, ON THE DEPOSIT-FEEDING POLYCHAETE, *CAPITELLA* SP I." *Environmental Toxicology and Chemistry* 28 (12):2695-2705. doi: 10.1897/08-522.1.
- Rosenmai, A. K., M. Dybdahl, M. Pedersen, B. M. Alice van Vugt-Lussenburg, E. B. Wedebye, C. Taxvig, and A. M. Vinggaard. 2014. "Are structural analogues to bisphenol a safe alternatives?" *Toxicol Sci* 139 (1):35-47. doi: 10.1093/toxsci/kfu030.
- Schreurs, R. H., J. Legler, E. Artola-Garicano, T. L. Sinnige, P. H. Lanser, W. Seinen, and B. Van der Burg. 2004. "In vitro and in vivo antiestrogenic effects of polycyclic musks in zebrafish." *Environ Sci Technol* 38 (4):997-1002.
- Segner, H., J. M. Navas, C. Schäfers, and A. Wenzel. 2003. "Potencies of estrogenic compounds in in vitro screening assays and in life cycle tests with zebrafish in vivo." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54 (3):315-322. doi: [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00040-4](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00040-4).

Seinen, W., J. G. Lemmen, R. H. H. Pieters, E. M. J. Verbruggen, and B. Van Der Burg. 1999. "AHTN and HHCB show weak estrogenic - But no uterotrophic activity." *Toxicology Letters* 111 (1-2):161-168. doi: 10.1016/S0378-4274(99)00177-0.

Ullah, A., M. Pirzada, S. Jahan, H. Ullah, G. Shaheen, H. Rehman, M. F. Siddiqui, and M. A. Butt. 2018a. "Bisphenol A and its analogs bisphenol B, bisphenol F, and bisphenol S: Comparative in vitro and in vivo studies on the sperms and testicular tissues of rats." *Chemosphere* 209:508-516. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.06.089.

Ullah, A., M. Pirzada, S. Jahan, H. Ullah, N. Turi, W. Ullah, M. F. Siddiqui, M. Zakria, K. Z. Lodhi, and M. M. Khan. 2018b. "Impact of low-dose chronic exposure to bisphenol A and its analogue bisphenol B, bisphenol F and bisphenol S on hypothalamo-pituitary-testicular activities in adult rats: A focus on the possible hormonal mode of action." *Food Chem Toxicol* 121:24-36. doi: 10.1016/j.fct.2018.08.024.

Wang, S., J. C. Rijk, H. T. Besselink, R. Houtman, A. A. Peijnenburg, A. Brouwer, I. M. Rietjens, and T. F. Bovee. 2014. "Extending an in vitro panel for estrogenicity testing: the added value of bioassays for measuring antiandrogenic activities and effects on steroidogenesis." *Toxicol Sci* 141 (1):78-89. doi: 10.1093/toxsci/kfu103.

Yamaguchi, A., H. Ishibashi, K. Arizono, and N. Tominaga. 2015. "In vivo and in silico analyses of estrogenic potential of bisphenol analogs in medaka (*Oryzias latipes*) and common carp (*Cyprinus carpio*)." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 120:198-205. doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.06.014.

Yamauchi, R., H. Ishibashi, M. Hirano, T. Mori, J. W. Kim, and K. Arizono. 2008. "Effects of synthetic polycyclic musks on estrogen receptor, vitellogenin, pregnane X receptor, and cytochrome P450 3A gene expression in the livers of male medaka (*Oryzias latipes*)." *Aquatic Toxicology* 90 (4):261-268. doi: 10.1016/j.aquatox.2008.09.007.

Yang, Q., X. Yang, J. Liu, W. Ren, Y. Chen, and S. Shen. 2017. "Exposure to Bisphenol B Disrupts Steroid Hormone Homeostasis and Gene Expression in the Hypothalamic–Pituitary–Gonadal Axis of Zebrafish." *Water, Air, and Soil Pollution* 228 (3). doi: 10.1007/s11270-017-3282-z.