

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Effets sanitaires du bisphénol A

Rapport d'expertise collective

Connaissances relatives aux usages du bisphénol A

Rapport d'étude

Septembre 2011

Édition scientifique

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Effets sanitaires du bisphénol A

Rapport d'expertise collective

Septembre 2011

Édition scientifique

Effets sanitaires du Bisphénol A

Saisines n°2009-SA-0331 et n°2010-SA-0197

RAPPORT d'expertise collective

**Comité d'Experts Spécialisés « Évaluation des risques
liés aux substances chimiques »**

Groupe de Travail « Perturbateurs endocriniens et reprotoxiques de catégorie 3 »

Septembre 2011

Mots clés

Bisphénol A, effets santé, reprotoxicité, développement, fertilité, neurotoxicité, perturbateur endocrinien

Présentation des intervenants

GRUPE DE TRAVAIL « PERTURBATEURS ENDOCRINIENS ET REPROTOXIQUES DE CATEGORIE 3 »

Président

EMOND Claude – Université de Montréal, Québec

Vice-président

BELZUNCES Luc – INRA

Membres

ANTIGNAC Jean-Philippe – ONIRIS, LABERCA

BERTRAND Nicolas – INRS

BLANCHARD Olivier – EHESP

CLAUW Martine – INPT/ENVT, Université de Toulouse

CRAVEDI Jean-Pierre – INRA

ELEFANT Elisabeth – Centre de référence sur les Agents tératogènes hôpital Trousseau APHP Paris

EUSTACHE Florence – CECOS

EZRATTY Véronique – EDF, Médecin de l'Institut Gustave Roussy (Villejuif) et d'un service de prévention et de dépistage des tumeurs de la ville de Paris

LE MAGUERESSE-BATTISTONI Brigitte – Inserm

LEMARCHAND Frédéric – Université de Caen

MANDIN Corinne – CSTB

MINIER Christophe – Université du Havre

MULTIGNER Luc – Inserm

SANCHEZ Wilfried – INERIS

STEENHOUT Anne – Université libre de Bruxelles

TAKSER Larissa – Université de Sherbrooke, Canada

THONNEAU Patrick – Inserm

VIGUIE Catherine – INRA

Coordination des travaux sur le bisphénol A

EUSTACHE Florence – CECOS

ADOPTION DU RAPPORT PAR LE COMITE D'EXPERTS SPECIALISES

Ce rapport a été soumis pour commentaires au(x) CES :

« Évaluation des risques liés aux substances chimiques » – 4 novembre, 9 décembre 2010, 27 janvier, 10 mars, 12 mai et 30 juin 2011

Président

GUERBET Michel – Professeur des Universités en toxicologie – Université de Rouen

Vice-président

SECRETAN-LAUBY Béatrice – Scientifique pour monographies – groupe IMO, CIRC/ OMS

Membres

BELZUNCES Luc – Directeur de Recherche - Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UMR 406 A&E, INRA

BONVALLOT Nathalie – Enseignant chercheur en toxicologie – EHESP Sorbonne Paris Cité, IRSET, Inserm. Démission en mars 2011

BOURGEOIS Damien – Chargé de Recherche – Institut de Chimie Séparative de Marcoule - CNRS

CASSIER-CHAUVAT Corinne – Directrice de Recherche DR2 CNRS – iBiTecS/SBIGeM/LBI, unité mixte CEA-CNRS URA 2096

EMPEREUR-BISSONNET Pascal Médecin, responsable de l'unité « Populations, Risques, Territoires » - Département Santé Environnement, InVS

ENRIQUEZ Brigitte – Enseignant chercheur (Pr) Pharmacie – toxicologie / Responsable de la pharmacie centrale – Unité de Pharmacie Toxicologie, ENVA

GUENOT Dominique – Chargée de recherche - CNRS

GUERBET Michel – Professeur des Universités en toxicologie – Laboratoire de toxicologie, UFR Médecine Pharmacie de Rouen.

HUYNH Cong Khanh – Docteur es Sciences - Ingénieur chimiste – Institut universitaire Roman de Santé au Travail

KRISHNAN Kannan – Professeur, enseignant chercheur - Santé publique et Toxicologie - Département de Santé environnementale et de santé au travail, Université de Montréal

LAFON Dominique – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail– INRS
LAGADIC-GOSSMANN Dominique – Directrice de Recherche CNRS – EA 4427 SeRAIC / IRSET, Université Rennes 1
LAUDET Annie - Pharmacien toxicologue retraitée – INRS
MÉNÉTRIER Florence – Responsable de l'unité Prositon / Pharmacien – DSV/Prositon, CEA
PRAT Odette - Chercheur Biologiste Toxicologue / Responsable Toxicogénomique - Institut de Biologie Environnementale et de Biotechnologie / DSV/ CEA
SCHROEDER Henri – Enseignant chercheur / Pharmacien biologiste – URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Nancy université
TISSOT Sylvie – Vétérinaire Toxicologue/Responsable de l'unité ETSC – INERIS. Démission en mars 2011

Après prise en compte des commentaires, le rapport a été approuvé par les membres du groupe de travail le 28 juin 2011.

Il a été adopté par le CES « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » le 30 juin 2011.

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Claire BEAUSOLEIL - Chef de projet scientifique – Direction Évaluation des risques - Unité Évaluation des Dangers et des Risques des Substances

Mme Aurélie MATHIEU - Chargée de projet scientifique – Direction Évaluation des risques - Unité Évaluation des Dangers et des Risques des Substances

M Christophe ROUSSELLE – Chef d'unité – Direction Évaluation des risques - Unité Évaluation des Dangers et des Risques des Substances

Contribution scientifique

Mlle Olivia ROTH – Interne en pharmacie – Direction Évaluation des risques - Unité Évaluation des Dangers et des Risques des Substances

Mme Fatoumata SISSOKO – Chargée de projet scientifique - Direction Évaluation des risques - Unité Évaluation des Dangers et des Risques des Substances

M Fabien LAGARDE – Interne en pharmacie – Direction Évaluation des risques - Unité Évaluation des Dangers et des Risques des Substances

Mlle Nathalie ARNICH – Chef de projet scientifique – Direction Évaluation des risques - Unité Évaluation des risques chimiques dans les aliments

Mme Sandrine PHILIPPE – Adjoint au chef d'unité – Direction Évaluation des risques - Unité appui et études relatifs aux substances

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX

CONTRIBUTIONS EXTERIEURES AU GROUPE

« Effets sur le système immunitaire » (JP Lepoittevin – Université de Strasbourg)

SOMMAIRE

Expertise collective : synthèse et conclusions.....	12
Effets sur le système reproducteur mâle	20
Effets sur le système reproducteur femelle	21
Effets sur le cerveau et le comportement	22
Effets sur le métabolisme lipidique et glucidique et le système cardio-vasculaire	23
Effets sur la thyroïde.....	24
Effets sur le système immunitaire.....	24
Effets sur l'intestin.....	25
Effets sur la prostate : développement et cancérogénicité.....	25
Effets sur le sein : cancérogénicité.....	26
Données écotoxicologiques.....	27
Abréviations	31
Glossaire	36
Liste des figures	46
Liste des annexes.....	47
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	48
1.1 Contexte.....	48
1.2 Objet de la saisine.....	49
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	49
2 Informations sur le bisphénol A.....	50
2.1 Identification de la substance	50
2.2 Pureté.....	50
2.3 Propriétés physico-chimiques	51
2.4 Devenir dans l'environnement	51
2.5 Réglementation européenne	52
2.6 Production et utilisations	54

3	Considérations générales	55
3.1	Mécanismes d'action	55
3.2	Modèles d'étude	56
3.2.1	Études épidémiologiques	56
3.2.2	Études expérimentales	57
3.3	Transposition à l'Homme	66
4	Méthode de travail	69
5	Toxicocinétique	75
5.1	Absorption	75
5.1.1	Par voie orale	75
5.1.2	Par voie cutanée	76
5.1.3	Par inhalation	77
5.2	Distribution	77
5.3	Métabolisme	78
5.4	Élimination	80
5.5	Toxicocinétique du BPA pendant la gestation et chez le fœtus	81
5.6	Toxicocinétique du BPA chez les nouveau-nés	82
6	Effets sur la santé	84
6.1	Apport des études épidémiologiques	84
6.1.1	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	85
6.1.2	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures	89
6.2	Effets sur le système reproducteur mâle	91
6.2.1	Données humaines	92
6.2.2	Données chez l'animal	93
6.2.3	Conclusion	100
6.3	Effets sur le système reproducteur femelle	101
6.3.1	Données humaines	102
6.3.2	Données chez l'animal	105
6.3.3	Modèles tissulaires/cellulaires d'origine humaine	120
6.3.4	Conclusion	121
6.4	Effets sur le cerveau et le comportement	123

6.4.1	Données humaines	126
6.4.2	Données chez l'animal.....	127
6.4.3	Conclusion	138
6.5	Effets sur le métabolisme et le système cardio-vasculaire.....	140
6.5.1	Données humaines	141
6.5.2	Données animales	143
6.5.3	Études in vitro	146
6.5.4	Conclusion	149
6.6	Effets sur la thyroïde.....	150
6.6.1	Données humaines	150
6.6.2	Données chez l'animal.....	150
6.6.3	Données <i>in vitro</i> ou sur les amphibiens.....	154
6.6.4	Conclusion	157
6.7	Effets sur le système immunitaire	159
6.7.1	Données humaines	160
6.7.2	Données animales	160
6.7.3	Données in vitro	163
6.7.4	Conclusion	165
6.8	Effets sur l'intestin.....	166
6.8.1	Données humaines	166
6.8.2	Données chez l'animal.....	166
6.8.3	Conclusion	168
6.9	Effets sur la prostate.....	169
6.9.1	Hypertrophie de la prostate.....	170
6.9.2	Lésions pré-neoplasiques	172
6.9.3	Cancer de la prostate.....	175
6.9.4	Adénocarcinome : Extrapolation à l'Homme - éléments d'interprétation.....	175
6.9.5	Conclusion	178
6.10	Effets sur le sein	179
6.10.1	Données humaines	180
6.10.2	Données animales.....	181
6.10.3	Expositions prénatale et périnatale	181
6.10.4	Exposition post natale et/ou pubertaire	184
6.10.5	Exposition à l'âge adulte	184
6.10.6	Transposition à l'Homme : éléments d'interprétation	185

6.10.7	Conclusion.....	190
7	Apport des études écotoxicologiques.....	191
7.1	Données d'exposition	191
7.2	Bioconcentration.....	192
7.3	Données de toxicocinétiques	192
7.4	Toxicité aiguë	192
7.5	Effets chez les poissons.....	193
7.6	Effets chez les mollusques.....	195
7.7	Conclusion.....	197
8	Discussion - conclusion.....	198
8.1	Limites méthodologiques	198
8.2	Caractéristiques liées à l'évaluation des effets toxicologiques du BPA.....	201
8.2.1	Méthodes expérimentales.....	201
8.2.2	Fenêtre de susceptibilité	202
8.2.3	Transposition des données animales à l'Homme.....	207
8.2.4	Problématique des relations dose-effet non- monotones	208
8.3	Synthèse des conclusions du rapport sur les effets sanitaires.....	210
8.3.1	Effets avérés	210
8.3.2	Effets non avérés	211
8.3.3	Effets pour lesquels les données ne permettent pas de conclure	212
8.4	Conclusions par organes ou systèmes	213
8.4.1	Effets sur le système reproducteur mâle	213
8.4.2	Effets sur le système reproducteur femelle	213
8.4.3	Effets sur le cerveau et le comportement	214
8.4.4	Effets sur le métabolisme et le système cardio-vasculaire	215
8.4.5	Effets sur la thyroïde	216
8.4.6	Effets sur le système immunitaire	216
8.4.7	Effets sur l'intestin.....	217
8.4.8	Effet sur la prostate.....	217
8.4.9	Effets sur le sein	217
8.4.10	Apport des études écotoxicologiques	218
8.5	Effets retenus pour l'évaluation des risques	219

9	Recommandations de recherche.....	220
10	Perspectives	221
11	Bibliographie.....	223
ANNEXES	246

Expertise collective : synthèse et conclusions

EXPERTISE COLLECTIVE : SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS

Relatives aux effets sanitaires du bisphénol A (BPA)

Ce document synthétise d'une part les travaux du groupe de travail « Perturbateurs endocriniens et Substances Reprotoxiques » et présente d'autre part les éventuels compléments du Comité d'Experts Spécialisés.

1. CONTEXTE ET PRESENTATION DE LA QUESTION POSEE

Par courrier du 4 juin 2009, la direction générale de la santé (DGS) a saisi l'Agence en vue de demander une expertise sur les risques sanitaires pour le consommateur liés à des substances reprotoxiques et/ou perturbateurs endocriniens présents dans des produits et/ou articles mis sur le marché, dont le bisphénol A (BPA). Par courrier du 18 février 2010, la direction générale de la prévention des risques (DGPR) a saisi l'Agence en vue de demander une expertise sur le BPA, prenant en compte tous les types d'effets toxiques, et pas uniquement les effets reprotoxiques et/ou liés à la perturbation endocrinienne. Un groupe de travail (GT) a été mandaté par l'Anses pour conduire une évaluation des effets sanitaires du BPA en s'appuyant, pour partie, sur les expertises déjà conduites, sur les résultats préliminaires de l'expertise collective Inserm et sur l'analyse des articles scientifiques publiés depuis juillet 2010.

Ce groupe de travail s'est réuni à huit reprises afin d'appréhender la problématique du BPA, qui est complexe, évolutive et très controversée. De nombreuses études publiées font référence au comportement du BPA en tant que composé perturbateur endocrinien œstrogéno-mimétique. Cependant, les données actuelles tendraient à indiquer que le BPA agirait également par d'autres modes d'action pour lesquels les données de la littérature sont encore parcellaires. Par ailleurs, les

méthodes toxicologiques adaptées à l'étude des perturbateurs endocriniens sont en cours de développement.

Ainsi, l'évaluation des effets sanitaires du BPA doit non seulement couvrir les effets de ce composé sur la fonction de reproduction, évaluation déjà couverte par l'expertise collective réalisée par l'Inserm¹, mais aussi d'autres types d'effets tels que par exemple, les effets sur le comportement de la descendance exposée, sur le système immunitaire ou sur la fonction thyroïdienne, non évalués dans le cadre de l'expertise de l'Inserm.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

Analyse bibliographique

L'expertise conduite par le GT « Perturbateurs endocriniens et Substances Reprotoxiques » s'est notamment appuyée sur les documents publiés par des instances d'expertise nationales et internationales (RAR-UE, 2002-2008 ; JRC, 2010 ; NTP-CERHR, 2008 ; Santé Canada, 2008 ; OEHHA, 2009 ; Afssa, 2010 ; Inserm, 2010¹ ; ...) ou par des « Panels d'experts » tels que Chapel Hill (2007). Le rapport d'expertise de l'EFSA publié en septembre 2010 et les conclusions du panel d'experts réunis sous l'égide de l'OMS/FAO publiées en novembre 2010 ont également été considérés par le groupe de travail.

La présente expertise tient compte des travaux de recherche dont les publications sont postérieures aux rapports d'expertise disponibles (date de fin de l'analyse bibliographique : 25 janvier 2011). En effet, depuis la parution du rapport préliminaire de l'Inserm en juin 2010, un nombre important de nouvelles études a été publié et a été analysé par les experts (plus de 70 à ce jour). Malgré l'intérêt indéniable des rapports d'expertise consacrés au BPA déjà disponibles, les experts ont considéré qu'il pouvait être nécessaire, compte-tenu de la complexité du sujet et des connaissances encore lacunaires sur les mécanismes d'action en jeu, d'analyser certaines études sources considérées comme des études clés pour certains types d'effets associés au BPA.

¹ Le rapport final de l'expertise Inserm ayant été publié en juin 2011 (expertise collective Reproduction et environnement), les experts du groupe de travail se sont basés sur le rapport préliminaire de l'Inserm (juin 2010). Une analyse comparative des conclusions de ces deux rapports sera réalisée ultérieurement.

Une attention particulière a été accordée d'une part, à l'ensemble des études épidémiologiques qui apportent des informations directement interprétables en termes d'effets chez l'Homme et, d'autre part, aux études expérimentales conduites à faibles doses chez l'animal.

Les experts se sont plus particulièrement intéressés aux études évaluant les effets du BPA à des doses inférieures au NOAEL² de 5 mg/kg/j, ayant servi à établir la Dose Journalière Tolérable (DJT) actuelle de l'EFSA (0,05 mg/kg/j) (2006, confirmée en 2010).

Les interrogations récentes en lien avec une exposition au BPA autre qu'alimentaire, *via* la voie cutanée, par exemple, justifient la prise en compte d'autres voies que la seule voie orale. Les études utilisant la voie sous-cutanée ont rarement fait l'objet d'une analyse systématique dans les expertises antérieures. Elles ont considéré pour la plupart les effets observés par voie orale, jugés plus représentatifs d'une exposition alimentaire. Cependant, le mode d'administration sous-cutanée permet de maîtriser les niveaux d'exposition avec plus de précision et de mettre en évidence des effets à des doses administrées beaucoup plus faibles que celles pouvant être administrées par voie orale.

Afin de garantir une bonne traçabilité du processus d'expertise et une analyse des documents concertée et argumentée, une grille de lecture, validée au préalable par l'ensemble du GT, a servi de support aux travaux du groupe. Des rapporteurs et relecteurs ont été nommés pour évaluer chaque type d'effet potentiellement associé au BPA. Chaque rapporteur ou sous-groupe de rapporteurs a rédigé une synthèse correspondant aux sous sections suivantes :

1. Effets sur le système reproducteur mâle,
2. Effets sur le système reproducteur femelle,
3. Effets sur le cerveau et le comportement,
4. Effets sur le métabolisme et le système cardiovasculaire,
5. Effets sur la thyroïde,
6. Effets sur le système immunitaire,
7. Effets sur l'intestin,
8. Effets sur la prostate,
9. Effets sur le sein.

² NOAEL = Niveau maximal n'entraînant pas d'effet néfaste observé (« No observed adverse effect level »)

L'ensemble du rapport a été présenté et discuté au sein du groupe de travail (GT). Les commentaires et conclusions du groupe d'experts sont rassemblés dans ce rapport dont la rédaction a été coordonnée par l'Anses.

L'étude des effets écotoxicologiques du BPA complète les données produites par les études toxicologiques, soit en confirmant les résultats rapportés par les études menées chez les mammifères, soit en permettant d'appréhender d'autres types d'effets ou d'autres mécanismes d'action du BPA.

Classification par organe ou système

Pour chaque type d'effet, les données disponibles ont été présentées selon les périodes d'exposition telles que rapportées dans les études (expositions prénatale, périnatale, néonatale, post-natale, pubertaire et à l'âge adulte).

Pour chaque type d'effet, le groupe de travail a caractérisé et qualifié ces effets en termes de :

- Effets avérés,
- Effets suspectés,
- Effets controversés,
- Effets pour lesquels les données disponibles ne permettent pas de conclure.

Chaque information disponible concernant un effet sanitaire est ainsi évaluée grâce à l'arbre décisionnel ci-après. Celui-ci s'interprète de la façon suivante :

Lorsque l'information disponible est obtenue à partir d'une seule ou de plusieurs études, chaque étude est analysée et considérée soit de « bonne qualité », soit présentant des « limites méthodologiques non majeures » ou des « limites méthodologiques majeures ».

Une étude de « bonne qualité » est définie comme comportant une méthodologie appropriée (cohérence du modèle d'exposition, prise en compte des facteurs de confusion,...) et un nombre suffisant d'observations.

Une étude est considérée comme présentant des « limites méthodologiques non majeures » lorsque l'un des aspects ci-dessus n'est pas considéré comme pleinement satisfaisant. Néanmoins, l'apport de l'étude à l'expertise a justifié sa prise en compte.

Lorsqu'une étude présente des insuffisances rédhibitoires (ex. faible effectif de la population examinée, non prise en compte de facteurs de confusion pertinents dans les études épidémiologiques,...), elle a été considérée comme présentant des « limites méthodologiques majeures ».

Lorsque les résultats d'études multiples de « bonne qualité », conduites par des équipes scientifiques différentes :

- convergent, l'effet est considéré comme « avéré »,
- divergent, l'effet est considéré comme « controversé ».

Lorsque les études présentant des « limites méthodologiques non majeures » :

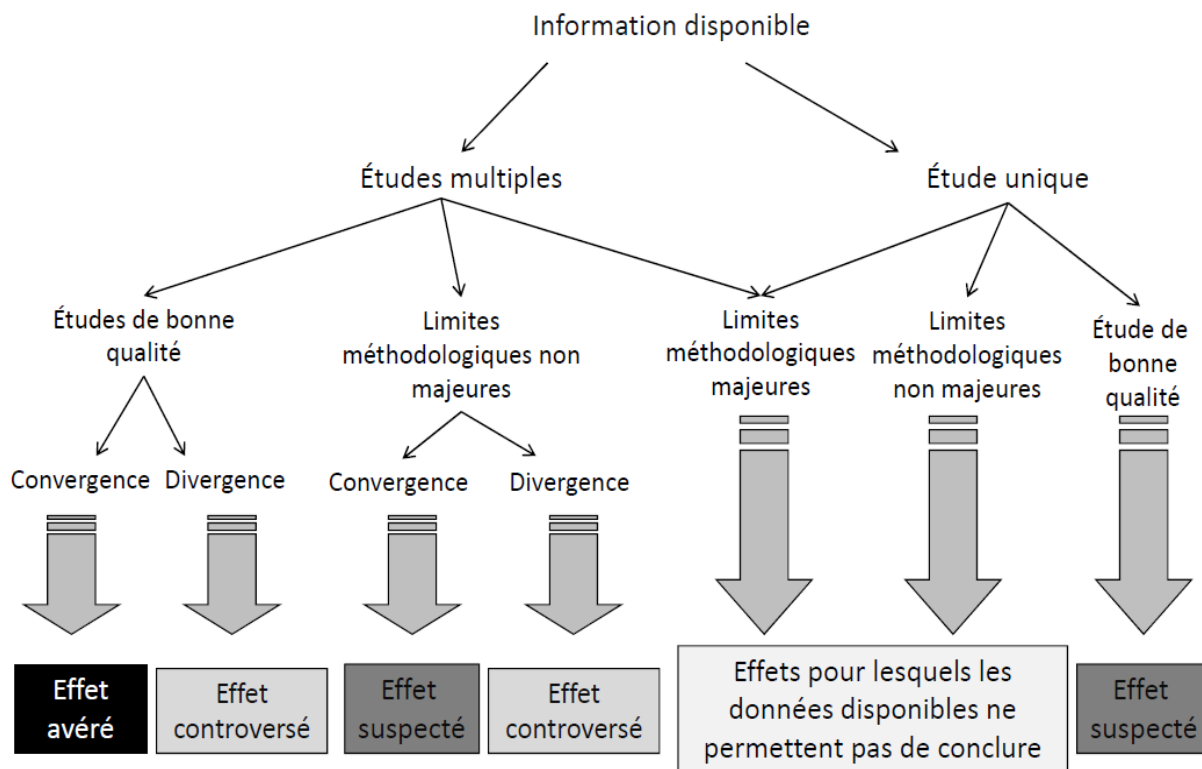
- convergent, l'effet est considéré comme « suspecté »,
- divergent, l'effet est considéré comme « controversé ».

Les études présentant des « limites méthodologiques majeures », sont écartées car elles ne permettent pas de conclure.

Enfin, lorsque l'information est rapportée par une seule étude, la méthodologie est évaluée :

- lorsqu'elle est de « bonne qualité », l'effet est « suspecté »,
- lorsqu'elle présente des « limites méthodologiques majeures ou non majeures », l'étude est écartée et ne permet pas de tirer de conclusion concernant l'effet considéré.

Le classement des effets selon cet arbre décisionnel a été conforté par le jugement des experts du groupe de travail.



Discussion de nature méthodologique permettant d'éclairer les difficultés rencontrées lors de l'évaluation des effets du BPA

Bien que les travaux de recherche sur le BPA soient nombreux, avec une accélération récente du rythme des publications, l'évaluation de la toxicité pour l'Homme des perturbateurs endocriniens en général, et du BPA en particulier, est rendue difficile par l'hétérogénéité des conditions expérimentales et la présence éventuelle de biais expérimentaux qui peuvent limiter l'interprétation des études animales.

Par ailleurs, au regard des phases critiques du développement, les périodes d'exposition sont particulièrement importantes à prendre en compte pour l'évaluation des effets. Les différences dans les périodes d'exposition considérées dans les études constituent un facteur supplémentaire de difficulté d'interprétation et/ou de comparaison des résultats.

Les experts souhaitent souligner les points suivants :

- La grande majorité **des données épidémiologiques** chez l'Homme relatives au BPA présente des faiblesses méthodologiques limitant la portée de leurs conclusions. En effet, les travaux publiés sont en général des études transversales dont l'interprétation est rendue difficile, en particulier sur la nature causale du lien entre les expositions mesurées au BPA et les événements de santé observés (ex. non prise en compte systématique des facteurs de confusion potentiels, petits effectifs de population,...). En conséquence, l'évaluation de risques sanitaires (ERS) s'appuiera essentiellement sur les données expérimentales, les apports de l'épidémiologie pouvant cependant conforter le choix des effets critiques retenus.
- En termes de **toxicologie expérimentale**, l'interprétation des résultats obtenus doit tenir compte des différences entre les espèces qui peuvent limiter la transposition à l'Homme des données observées chez l'animal.
- En raison des effets du BPA à de très faibles doses (de l'ordre du µg/kg pc voire moins), les experts soulignent l'existence de nombreuses **variables expérimentales** pouvant expliquer les résultats divergents observés, par exemple le modèle animal utilisé (espèces et souches), l'aliment donné aux animaux (notamment selon leur teneur en phytoestrogènes), la nature des paramètres investigués, l'emploi inapproprié ou l'absence de témoins positifs,...
- L'existence possible d'une relation **dose-réponse non monotone** rend également complexe l'interprétation des résultats.
- Les experts soulignent **l'hétérogénéité des protocoles utilisés**, notamment en termes d'outils de mesures, d'effets observés et de voies d'exposition qui rend difficile l'interprétation et/ou la comparaison des résultats. Ceci incite à une très grande prudence dans le niveau de confiance à accorder à certains effets rapportés. Les principales limites relevées par les experts sont les suivantes :
 - des effets mis en évidence par certaines équipes n'ont pu, à ce jour, être reproduits par d'autres,
 - dans la mesure où certaines études n'ont pas été réalisées dans une optique d'ERS, les résultats ne sont pas toujours utilisables à cet effet (ex. modèle d'étude non approprié, protocole utilisant une seule dose d'exposition,...),
 - pour certains types d'effets, les lignes directrices de l'OCDE actuelles ne permettent pas d'investiguer les effets toxicologiques à long terme consécutifs à une exposition

pré-, péri- ou post-natale précoce (ex. développement tumoral à l'âge adulte consécutif à une exposition prénatale).

- Concernant les données de **toxicocinétique**, les experts soulignent les divergences de résultats entre les études anciennes et récentes, pouvant s'expliquer par la prise en compte ou non des formes libres ou conjuguées du BPA. En effet, seules les techniques d'analyse actuelles permettent de discriminer ces deux formes. Il convient de souligner également que les formes conjuguées ne sont pas actives sur les récepteurs hormonaux. De plus, des études récentes indiquent qu'une déconjugaison libérant du BPA libre est susceptible de se produire notamment au niveau des tissus placentaires ou fœtaux.
- La cinétique d'absorption, de distribution, de biotransformation et d'élimination du BPA variant selon **la voie d'administration et l'espèce**, le groupe d'experts considère important d'analyser précisément l'impact des voies d'exposition suivant les espèces animales.

Les effets des perturbateurs endocriniens peuvent être différents selon les **périodes d'exposition**. Les experts estiment important de bien caractériser l'influence de ces périodes et leur concordance avec les fenêtres de susceptibilité qui ne sont pas toujours connues.

3. RESULTATS DE L'EXPERTISE COLLECTIVE

Conclusions par organe ou système

Les conclusions s'appuient sur les résultats des données humaines disponibles ainsi que sur des données animales obtenues le plus souvent à des doses inférieures au NOAEL de 5 mg/kg/j ayant servi à dériver la DJT actuelle établie par l'EFSA.

Effets sur le système reproducteur mâle

Chez l'homme :

- **Les effets du BPA sur le système reproducteur masculin sont controversés.** Les experts soulignent la difficulté de conclure sur la base des études épidémiologiques car celles-ci ne convergent pas totalement, les populations étudiées n'étant pas toujours identiques dans les études analysées (hommes fertiles, hommes infertiles, travailleurs).

Chez l'animal :

- L'altération de **la production spermatique** en lien avec une exposition de 5 semaines à **l'âge adulte** au BPA, est **avérée**. Les effets observés par voie orale dans l'étude de Chitra *et al.* (2003)³, et ceux observés par voie sous-cutanée dans l'étude d'Herath *et al.* (2004)⁴, sont convergents pour ce paramètre uniquement pour une **exposition survenant à l'âge adulte** ;
- Les effets sur **le système reproducteur mâle** (diminution des concentrations plasmatiques de testostérone, modification du comportement sexuel), dus à une exposition pendant la **période pubertaire**, sont **suspectés** ;
- Les effets sur **le système reproducteur mâle** dus à une exposition pendant les **périodes d'exposition prénatale, néonatale et post-natale (lactation)** sont **controversés**.

Effets sur le système reproducteur femelle

Chez la femme :

- L'effet du BPA sur la **maturation ovocytaire chez la femme** (diminution du nombre d'ovocytes après stimulation ovarienne et altération de la qualité des ovocytes collectés), dans un contexte de recours à la procréation médicalement assistée, est **suspecté** sur la base d'une étude de bonne qualité (Mok-Lin *et al.*, 2010)⁵ et d'une autre présentant des limites méthodologiques non majeures (Fujimoto *et al.*, 2010)⁶ ;
- Les autres études épidémiologiques sont peu nombreuses et présentent des limites méthodologiques (taille de la population étudiée, sélection des participants, analyses

³ Chitra KC, Latchoumycandane C, Mathur PP. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology*. 2003 Mar 14;185(1-2):119-127

⁴ Herath CB, Jin W, Watanabe G, Arai K, Suzuki AK, Taya K. Adverse effects of environmental toxicants, octylphenol and bisphenol A, on male reproductive functions in pubertal rats. *Endocrine* 2004 Nov;25(2):163-172.

⁵ Mok-Lin E, Ehrlich S, Williams P., Petrozza J, Wright DL, Calafat AM, Ye X, Hauser R. Urinary bisphenol A concentrations and ovarian response among women undergoing IVF. *Int J Andro*. 2010 Apr; 33(2):385-393

⁶ Fujimoto VY, Kim D, vom Saal FS, Lamb JD, Taylor JA, Bloom MS. Serum unconjugated bisphenol A concentrations in women may adversely influence oocyte quality during in vitro fertilization *Fertil Steril*. 2011 Apr;95(5):1816-9.

statistiques, facteurs de confusion,...). Les données humaines sont donc à considérer avec la plus grande prudence et ne sont en rien conclusives d'un effet du BPA sur les paramètres étudiés. Les experts considèrent, qu'en l'état actuel des connaissances, **les données humaines relatives aux effets du BPA sur l'endomètre (endométriose, hyperplasie), sur les ovaires (syndrome des ovaires polykystiques) et l'issue de la grossesse (fausse-couches et prématurité) chez la femme ne permettent pas de conclure.**

Chez l'animal, sur la base de la convergence de résultats d'études effectuées **au cours du développement** (expositions pré et post-natales) dans différentes conditions et sur différents modèles, les effets suivants peuvent être considérés comme **avérés** :

- **Augmentation de la survenue de kystes ovariens,**
- **Apparition d'hyperplasies de l'endomètre,**
- **Avancement de l'âge de la puberté lors d'expositions prénatale et post-natale,**
- **Effets sur l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope** due à une exposition *in utero* ou post-natale précoce entraînant des variations des taux d'hormones sexuelles et de l'expression des récepteurs de ces hormones.

Par ailleurs, chez l'animal, les effets liés à une exposition à l'âge adulte (ex. nombre de sites d'implantation, remaniement histologique de la paroi utérine, morphologie du tractus génital,...) sont observés mais pour des doses bien supérieures au NOAEL retenu par l'EFSA.

Effets sur le cerveau et le comportement

Chez l'Homme :

- Les experts considèrent que les données humaines disponibles sont **insuffisantes** à ce jour pour conclure sur les **effets du BPA sur le comportement.**

Chez l'animal :

- Les effets en lien avec une **exposition au BPA pré ou périnatale** sur le **développement cérébral** sont confirmés par plusieurs études qui montrent, notamment, des modifications du profil de neurodifférenciation, des altérations des systèmes aminergique et glutamatergique, des modifications de l'expression des récepteurs aux œstrogènes α et β ,

et du nombre de neurones sensibles à l'ocytocine et à la sérotonine. Ces effets sur la neurogénèse sont considérés comme **avérés** ;

- Les **modifications du comportement maternel** (ex. diminution du temps passé par les mères au soin porté aux petits) en lien avec une **exposition pré ou post-natale au BPA** sont des effets jugés **suspectés** ;
- Les effets en lien avec une **exposition au BPA pré ou périnatale** sur **l'anxiété, le comportement exploratoire et le dimorphisme sexuel comportemental** (accroissement de l'anxiété, diminution du comportement exploratoire, féminisation comportemental des mâles issus de mères traitées) sont jugés **controversés** par le groupe de travail.

Effets sur le métabolisme lipidique et glucidique et le système cardio-vasculaire

Chez l'Homme :

- Lors de l'étude épidémiologique transversale de Melzer *et al.* (2010)⁷, une **corrélation** a été observée entre les teneurs urinaires en BPA les plus élevées et des **pathologies cardiovasculaires (maladies coronariennes) et le diabète**. Les experts considèrent ces effets comme **suspectés**.

Chez l'animal :

- Le BPA induit une augmentation de la lipidémie, une tendance à la surcharge pondérale et une activation de la lipogenèse. Les **effets sur la lipogenèse** (données *in vivo* et *in vitro*) suite à une **exposition pré, périnatale ou à l'âge adulte** sont considérés comme **avérés** ;
- Les effets sur le **métabolisme du glucose** suite à une **exposition pré ou périnatale** au BPA sont considérés **controversés**.

⁷ Melzer D, Rice NE, Lewis C, Henley WE, Galloway TS. Association of urinary bisphenol a concentration with heart disease: evidence from NHANES 2003/06. PLoS One. 2010 Jan 13;5(1):e8673.

Effets sur la thyroïde

Chez l'Homme :

- La seule étude disponible traitant des effets du BPA sur la fonction thyroïdienne **ne permet pas de conclure**.

Chez l'animal :

- Les données sur la métamorphose des amphibiens en réponse à la tri-iodothyronine (T3) montrent un effet potentiel du BPA comme antagoniste des hormones thyroïdiennes (ex. inhibition de la métamorphose). Cet effet est considéré comme avéré chez l'amphibien et pourrait être expliqué par les effets antagonistes décrits *in vitro*. Cependant, si le modèle amphibien est utile en matière de criblage et d'étude des mécanismes d'action, il n'est pas à lui seul suffisant pour caractériser le danger chez l'Homme ;
- Chez les rongeurs, les deux études expérimentales reposant sur des approches relativement similaires (exposition développementale, voie orale en prise spontanée,...) tendent à montrer un effet du BPA sur la fonction thyroïdienne sur une période correspondant à la maturation finale de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien.

Ainsi, sur l'ensemble des données expérimentales (ex. amphibiens, rongeurs, données *in vitro*), **les effets sur la thyroïde en lien avec une exposition néonatale au BPA** sont considérés **suspectés**.

Effets sur le système immunitaire

Chez l'Homme :

- La seule étude disponible traitant des effets du BPA sur le système immunitaire **ne permet pas de conclure**.

Chez l'animal :

- L'induction des lymphocytes T, et plus particulièrement des lymphocytes Th2, accompagnée de la surproduction des cytokines est considérée comme **un effet avéré**. Le déplacement observé de la réponse immunitaire est plutôt en faveur de l'induction d'un profil prédisposant à l'allergie (prolifération et activation de lymphocytes Th2 et synthèses

de cytokines impliquées dans l'allergie). A ce stade l'extrapolation de ces observations chez l'Homme n'est pas connue.

Effets sur l'intestin

Chez l'Homme :

- **Aucune étude n'a été identifiée par le GT à ce jour.**

Chez l'animal :

- L'étude de Braniste *et al.* (2010⁸) montre un effet anti-inflammatoire et pro nociceptif du BPA, du même type que ceux produits par l'œstradiol, ainsi qu'une diminution dose-dépendante de la perméabilité intestinale suite à une exposition à l'âge adulte chez des rates ovariectomisées. Chez des animaux issus de mères traitées, un effet pro-inflammatoire et une diminution de la perméabilité intestinale sont observés dans la descendance femelle. **L'effet du BPA sur l'inflammation et la perméabilité intestinale est suspecté.**

Effets sur la prostate : développement et cancérogénicité

Chez l'homme :

- **Aucune étude n'a été identifiée par le GT à ce jour.**

Chez l'animal :

- Les études de Tyl *et al.* (2002 et 2008)^{9,10} conduites chez la souris et le rat sur plusieurs générations ne montrent pas d'effet sur le poids de la prostate. En revanche, d'autres

⁸ Braniste V, Jouault A, Gaultier E, Polizzi A, Buisson-Brenac C, Leveque M, Martin PG, Theodorou V, Fioramonti J, Houdeau E. Impact of oral bisphenol A at reference doses on intestinal barrier function and sex differences after perinatal exposure in rats., PNAS 2010, 107(1):448-53.

⁹ Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Thomas BF, Keimowitz AR, Brine DR, Veselica MM, Fail PA, Chang TY, Seely JC, Joiner RL, Butala JH, Dimond SS, Cagen SZ, Shiotsuka RN, Stropp GD, Waechter JM. Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. Toxicol Sci. 2002 Jul;68(1):121-46.

études (Chitra *et al.*, 2003 et Herath *et al.*, 2004)^{2,3} montrent une augmentation du poids relatif de la prostate ventrale chez le rat après une exposition uniquement à l'âge adulte ou une augmentation du poids de la prostate après une exposition prénatale chez la souris (Nagel *et al.*, 1997)¹¹. **Les effets sur le poids de la prostate sont controversés.** Lorsqu'un examen histologique a été réalisé, cette augmentation de poids a été associée à une hyperplasie ;

- Chez les rongeurs, **l'exposition néonatale** au BPA, dans des conditions induites, a mis en évidence l'apparition de **lésions prostatiques de type PIN** (néoplasie prostatique intra-épithéliale), sans l'apparition d'adénocarcinome de la prostate. Les effets observés dans ces conditions expérimentales sont **suspectés**.

Au regard de tous ces résultats, les experts considèrent que **les effets sur la prostate chez l'animal sont controversés**.

Effets sur le sein : cancérogénicité

Chez l'Homme :

- **La seule étude disponible ne permet pas de conclure** sur le lien entre une exposition au BPA et le cancer du sein.

Chez l'animal (rongeurs), les experts considèrent que, sur la base des données disponibles :

- **L'accélération de la maturation architecturale de la glande mammaire à l'âge adulte** en lien avec une **exposition pré ou périnatale** au BPA est un effet **avéré** ;
- Le **développement de lésions hyperplasiques intracanalaires** en lien avec une **exposition pré ou périnatale** au BPA est un effet **avéré** ;

¹⁰ Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Sloan CS, Castillo NP, Veselica MM, Seely JC, Dimond SS, Van Miller JP, Shiotsuka RN, Beyer D, Hentges SG, Waechter JM Jr. Two-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD-1 (Swiss) mice. *Toxicol Sci.* 2008 Aug;104(2):362-84.

¹¹ Nagel SC, vom Saal FS, Thayer KA, Dhar MG, Boechler M, Welshons WV. Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. *Environ Health Perspect.* 1997 Jan;105(1):70-6.

- Le **développement de lésions de type néoplasique** (CIS ; carcinomes intracanaux) après une **exposition périnatale** au BPA est un **effet suspecté** ;
- L'**augmentation de la susceptibilité des glandes mammaires à développer ultérieurement des tumeurs mammaires** (lors de co-expositions avec un agent cancérigène) en lien avec une **exposition pré ou périnatale** au BPA est un **effet suspecté**.

Données écotoxicologiques

Les études écotoxicologiques indiquent que des effets sur la reproduction et le développement peuvent affecter les espèces sauvages et que ces effets se manifestent à des concentrations susceptibles d'être rencontrées dans l'environnement.

Effets retenus pour l'évaluation des risques

A l'issue de cette analyse, les experts retiennent en première intention, les effets jugés « avérés » chez l'animal (aucun effet avéré identifié chez l'Homme à ce jour) et « suspectés » chez l'Homme pour la réalisation de l'évaluation des risques sanitaires (ERS). Néanmoins, ils se réservent la possibilité, suivant la pertinence et la plausibilité des effets, de considérer également dans un second temps les effets jugés « suspectés » ou « controversés » pour conduire l'ERS.

Le groupe de travail prendra donc en considération pour l'évaluation des risques les effets jugés :

- **« avérés » chez l'animal :**
 - L'augmentation de la survenue de kystes ovariens lors d'expositions pré et post-natales,
 - Les modifications hyperplasiques de l'endomètre lors d'expositions pré et post-natales,
 - L'avancement de l'âge de la puberté lors d'expositions pré et post-natales,
 - L'altération de la production spermatique lors d'expositions à l'âge adulte,
 - Les modifications histologiques sur la neurogenèse lors d'expositions pré ou périnatale,
 - Les effets sur la lipogenèse suite à une exposition prénatale, périnatale ou à l'âge adulte,

- Les effets sur la glande mammaire : accélération de la maturation architecturale de la glande mammaire à l'âge adulte et développement de lésions hyperplasiques intra-canales en lien avec une exposition pré ou périnatale au BPA.
- « **suspectés** » chez l'Homme :
- Les effets sur la maturation ovocytaire chez la femme dans un contexte de procréation médicalement assistée,
 - Les effets sur les pathologies cardiovasculaires (maladies coronariennes) et le diabète.

4. RECOMMANDATIONS DU CES

Perspectives méthodologiques

A l'issue des travaux d'expertise déjà réalisés sur les effets sanitaires, la faisabilité et la pertinence de conduire une évaluation des risques sanitaires, prenant en compte l'ensemble des voies d'exposition et usages, seront étudiées. Pour ce faire, le CES « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » recommande les développements méthodologiques suivants :

- Appliquer une méthode de cotation du niveau de preuves pour chacun des effets en intégrant l'ensemble des données humaines et animales ;
- Évaluer les effets du BPA, notamment en lien avec un potentiel effet perturbateur endocrinien, en prenant en compte le caractère néfaste des effets, leur sévérité, leur pertinence et leur réversibilité ;
- Analyser de manière approfondie les études ayant mis en évidence des relations dose-effet non-monotones ;
- Conduire une analyse complémentaire des données de toxicocinétique afin de pouvoir évaluer les similitudes ou les différences (qualitatives ou quantitatives) entre les espèces animales et l'Homme, et ainsi déterminer la biodisponibilité du BPA chez l'Homme ;
- Déterminer des bioéquivalences de dose à partir de données de toxicocinétiques, afin de pouvoir utiliser les résultats des études par voie sous-cutanée en vue d'une transposition voie à voie pour l'ERS ;

- Proposer le développement d'un modèle PBPK permettant de déterminer la dose active au niveau de l'organe cible chez l'animal pouvant être ensuite transposée à l'Homme. Cet outil permettrait également d'intégrer les données de biosurveillance disponibles et à venir ;
- Évaluer la pertinence de l'utilisation des Valeur(s) Toxicologique(s) de Référence (VTR) ou DJT pour des substances présentant des courbes dose-réponse non monotones ;
- Prendre en compte les auditions réalisées et à venir sur les perturbateurs endocriniens en général afin de documenter les incertitudes et les préoccupations des parties prenantes (représentants de la société civile, industries, société,...) ;
- Recenser les substituts identifiés et les données disponibles sur la toxicité de ces substituts.

Recommandations de recherche

Des premières recommandations de recherche ont été proposées par les experts. Celles-ci seront complétées à l'issue des travaux d'expertise.

- Améliorer les connaissances sur les expositions au BPA chez l'Homme et, pour ce faire :
 - Identifier les sources environnementales de BPA et développer des matrices de type usages/exposition ;
 - Renseigner les expositions en milieu professionnel et développer des matrices de type emplois/exposition ;
 - Promouvoir la réalisation d'études épidémiologiques dont les caractéristiques (type d'étude, effectif et mode de recrutement des populations observées, contrôle des principaux facteurs de confusion, etc.) permettent de produire des résultats avec un haut niveau de preuve sur l'existence d'un lien causal entre exposition au BPA et les événements de santé étudiés ;
- Acquérir des données de biosurveillance incluant la période *in utero* et générer des données précises et fiables d'exposition (alimentaire en particulier) et d'imprégnation des populations au BPA, incluant la distinction des formes libres et des formes conjuguées. En effet, ce type de données fait largement défaut en général, et au plan national en particulier, alors qu'elles sont utiles à l'ERS ;
- Compte tenu de l'importance de la période d'exposition dans l'impact attendu des perturbateurs endocriniens et de l'apparition tardive de plusieurs de ces effets incluant des effets pré-néoplasiques et/ou néoplasiques, il conviendrait de réaliser une étude

expérimentale combinant une exposition prénatale et/ou post-natale à faibles doses et un suivi des effets durant toute la vie de l'animal. Ce type de protocole viserait par exemple, à combiner les principes et procédures décrits dans les lignes directrices actuelles de l'OCDE pour l'étude de la toxicité sur le développement d'une part et de la cancérogenèse d'autre part moyennant des modifications appropriées.

Maisons-Alfort, le 08/09/2011,

Au nom des experts du CES

« Évaluation des risques liés aux substances chimiques »,

M Guerbet

Le président du CES

Abréviations

ACC	Acetyl-CoA carboxylase
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AhR	Récepteur des hydrocarbures aromatiques
Afssa	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
Afsset	Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail
AMP	Assistance Médicale à la Procréation
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire
APV / AVPV	Noyau Antéro-Ventral Périventriculaire
AR	Récepteur aux androgènes (Androgen Receptor)
ARC	noyaux Antéro-Ventrale arqué
ARNm	Acide ribonucléique messenger
AUC	Aire sous la courbe (Area under the plasma concentration time curve)
BADGE	Bisphénol A DiGlycidyl Ether
BE	Benzoate d'oestradiol
BfR	The Federal Institute For Risk Assessment
BKH	BKH Consulting Engineers
BMD	Benchmark dose
BPA	Bisphénol A
BPA-GA	Bisphénol A glucuronide
BPA-SG	BPA specific-gravity
BPB	Bisphénol B
BPE	Bisphénol E
BPF	Bisphénol F
BPL	Bonnes pratiques de laboratoire
CD-SD	Rat Sprague-Dawley (SD) commercialisé par les laboratoires Charles River
C/EBP- α	CAAT enhancer binding protein α
CFSAN	Center for Food Safety and Applied Nutrition
CIS	Carcinome <i>in situ</i> (canaulaire ou lobulaire).
CCIS	Carcinome canalaire <i>in situ</i>
CERHR	Center for the evaluation of Risks to Human Reproduction

CES	Comité d'experts spécialisés
CLIS	Carcinomes lobulaires <i>in situ</i>
Cmax	Concentration sérique maximale
DA	Dopamine
DAT	Transporteur de la dopamine
DES	Diéthylstilbestrol
DHEA	Déhydroépiandrostérone
DHEAS	Sulfate de déhydroépiandrostérone
DHI	BKH Consulting Engineers
DHT	Dihydrotestostérone
DIN	Néoplasie intraépithéliale canalaire/ductale
DJA	Dose Journalière Admissible
DGPR	Direction Générale de la Prévention des Risques
DGS	Direction Générale de la Santé
DMBA	Diméthylbenzanthracène
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DOPAC	Acide 3,4-dihydroxyphényl acétique (métabolite de la dopamine)
DJT	Dose Journalière Tolérable
EB	Estradiol Benzoate
EC50	Effective Concentration (required to induce a 50% effect).
ECHA	Agence Européenne des Produits Chimiques
EE2	Ethinylestradiol
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ENU	N-éthyl-N-nitrosourée
ER	Récepteur aux estrogènes
ER α	Récepteur α aux oestrogènes (ou Estrogen Receptor α)
ER β	Récepteur β aux oestrogènes (ou Estrogen Receptor β)
ERR γ	Récepteur γ apparenté aux récepteurs aux oestrogènes (Estrogen Related Receptor γ)
ERS	Evaluation de Risques Sanitaires
FAI	Free Androgen Index (ou Index de testostérone libre)

FAO	Food and Agriculture Organization
FAS	Fatty acid synthase
FDA	US Food and Drug Administration
FIV	Fécondation In Vitro
FSH	Hormone folliculostimulante
GD	Jour de gestation (gestational day)
GFP	Green Fluorescent Protein
GHR	Récepteur aux hormones de croissance
GPCR	G-protein–coupled nonclassical membrane Estrogen Receptor
GPR30	Récepteur transmembranaire GPR30 impliqué dans la prolifération cellulaire
HCA	Hyperplasie Canalaire Atypique
HHG	Hypothalamo-Hypophysaire-Gonadotrope
HOMA	Homeostatic Model Assessment
Hpf	Hour post-fertilization
HPLC	Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance
HT	Hormones Thyroïdiennes
5-HT	5 Hydroxytryptamine ou sérotonine
5-HIAA	Acide 5-Hydroxyindolacétique (métabolite urinaire de la sérotonine)
ICCVAM	Interagency Coordinating Committee for the Validation of Alternative Methods
IDF	Fédération Internationale du Diabète
Ig	Immunoglobuline
IMC	Indice de Masse Corporelle
Inserm	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
IP	Intra-péritonéale
JRC	Joint Research Centre
LC-MS/MS	Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse
LH	Hormone lutéinisante (Luteinizing Hormone)
LIN	Néoplasie Intraépithéliale Lobulaire (Lobular Intra-epithelial Neoplasia)
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level
LOQ	Limite de quantification
LPL	Lipoprotéine lipase
MIF	Macrophage migration Inhibitory Factor

MPO	Myéloperoxydase
MR	Récepteur aux minéralocorticoïdes dans l'hippocampe
NCEP-ATPIII	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
ncm ER	Nonclassical membrane Estrogen Receptor
ND	Non détectable
NE	Noradrénaline
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
NMDA	Acide N-méthyl-D-aspartique
NMU	N-méthyl-N-nitrosourée
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
NS	Non significatif
NTP	National Toxicology Program
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economiques
OEHHA	Office of Environmental Health Hazard Assessment
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
pc	poids corporel
PEC	Predicted Environmental Concentration
PIN	Prostatic Intraepithelial Neoplasia
PND	Post-Natal Day
PNEC	Predicted No Effect Concentration
PNW	Post-Natal Week
PPAR	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (récepteur au facteur activé de prolifération des peroxyosomes)
PPT	4,4',4''-(4-propyl-[1H]-pyrazole-1,3,5-tyl)trisphenol
PR	Récepteur à la progestérone
PSA	Antigène prostatique spécifique
REACH	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
RfD	Reference Dose
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (réaction en chaîne par polymérase)
SC	Voie sous-cutanée
SCD-1	Stearoyl-CoA desaturase

SD	Rat Sprague-Dawley
SHBG	Sex Hormone–Binding Globuline
SOPK	Syndrome des Ovaires Polykystiques
SREBP-1C	Sterol Regulatory Element Binding Protein-1C
SULT	Sulfotransférase
T3	Tri-iodothyronine
T4	Tétra-iodothyronine ou thyroxine
TBG	Thyroxin Binding Globulin (Protéine de liaison des hormones thyroïdiennes)
TEB	Bourgeons terminaux
TNBS	Acide trinitrobenzene sulfonique
TNF	Tumour Necrosis Factor (facteur de nécrose tumorale)
TPX	Polyméthylpentène
TR β	Récepteurs des hormones thyroïdiennes β (NR1A1)
TSH	Thyroid Stimulating Hormon (Thyréostimuline)
TTR	Transthyrétine
UE	Union Européenne
UGT	Uridine Diphosphate Glucuronosyl Transférase
VO	Voie orale
Vtg	Vitellogénine
VTR	Valeur Toxicologique de Référence

Glossaire

Androgène, terme générique utilisé pour tout composé, naturel ou synthétique, stimulant ou contrôlant le développement et le maintien des caractères masculins chez les vertébrés et englobant l'activité des organes sexuels secondaires et le développement des caractères masculins secondaires. Le principal androgène est la testostérone. Tous les androgènes naturels sont des dérivés stéroïdiens de l'androstane (noyau de 19 hydrocarbures à 4 cycles, $C_{19}H_{32}$). Ils sont également les précurseurs des œstrogènes, les hormones sexuelles femelles.

Une partie d'entre eux, les androgènes surrénaux, comprend tous les stéroïdes à 19 atomes de carbone synthétisés par la glande surrénale, qui agissent comme stéroïdes faibles ou comme précurseurs des stéroïdes, incluant la déhydroépiandrostérone (DHEA), le sulfate de déhydroépiandrostérone (DHEA-S), et l'androstènedione. Hormis la testostérone, les androgènes comprennent :

- La déhydroépiandrostérone (DHEA)
- L'androstènedione
- L'androstanediol
- L'androstérone
- L'androsténolone
- La dihydrotestostérone (DHT)

Andropause : Arrêt ou ralentissement de l'activité sexuelle chez l'homme, dû au vieillissement, et accompagné de certains troubles d'ordre général (terme sans signification physiologique précise).

Anti-androgène : Substance qui bloque l'action des androgènes. Il se lie aux récepteurs des androgènes, mais sans les activer.

Anomalies de l'appareil reproducteur masculin : La différenciation sexuelle est un processus hormono-dépendant complexe, qui détermine si le fœtus deviendra de sexe masculin ou restera de sexe féminin (état par défaut). Ce processus est déclenché par une série d'événements qui doivent se produire d'une manière précise et coordonnée pour assurer le développement du système reproducteur masculin et des caractères sexuels secondaires connexes. La cryptorchidie, ou rétention des testicules dans l'abdomen après l'âge d'un an, et l'hypospadias, anomalie se caractérisant par un mauvais positionnement du méat urétral, sont deux anomalies fréquentes de l'appareil reproducteur masculin.

Avortement spontané : Communément appelé " fausse couche ", l'avortement spontané désigne l'expulsion d'un fœtus non viable de moins de 500 g, habituellement avant la 20^e semaine de grossesse (calculée à partir de la première journée des dernières menstruations). On estime à

50% de toutes les grossesses, l'incidence des avortements spontanés, cette hypothèse s'appuyant sur le fait qu'un grand nombre de grossesses ne sont pas reconnues cliniquement.

Biomarqueur : Indicateur signalant un événement ou un état dans un système ou un échantillon biologique, et donnant une mesure d'une exposition (biomarqueur d'exposition), d'un effet ou d'une sensibilité (biomarqueur d'effet). En biosurveillance, le biomarqueur désigne la présence d'une substance ou d'un changement dans une structure ou un processus biologique, qui peut être mesuré à la suite d'une exposition. De nombreuses études sur la biosurveillance utilisent des substances chimiques ou leurs métabolites comme biomarqueurs. (www.biomonitoringinfo.org)

Biosurveillance : Mesure continue ou répétée de substances potentiellement toxiques, de leurs métabolites ou de leurs effets biochimiques dans les tissus, les sécrétions, les excréta, l'air expiré, ou toute combinaison de ces milieux ou substances. La biosurveillance a pour but d'évaluer l'exposition professionnelle ou environnementale et les risques pour la santé, en établissant des comparaisons avec des valeurs de référence appropriées, basées sur le lien probable entre l'exposition ambiante et les effets nocifs sur la santé qui en résultent (www.biomonitoringinfo.org).

Biotransformation : La biotransformation (ou métabolisme) est le procédé au cours duquel une substance chimique est modifiée (transformée) par une réaction chimique, à l'intérieur de l'organisme.

Cancer des testicules : Le cancer des testicules se divise généralement en deux types histologiques, les séminomes qui représentent environ 30% de toutes les tumeurs testiculaires et les non séminomes qui englobent un groupe de cancers dont le choriocarcinome, le carcinome embryonnaire, le tératome et les tumeurs vitellines. Les deux types peuvent être présents dans une même tumeur. Les facteurs de risque du cancer des testicules incluent notamment la cryptorchidie, le syndrome de Klinefelter.

Caractérisation du risque : Intégration de la détermination du danger, de la caractérisation du danger et de l'évaluation de l'exposition dans une estimation des effets nocifs sur la santé susceptibles de se manifester au sein d'une population donnée, incluant les incertitudes connexes. (<http://www.who.int/foodsafety/micro/riskassessment/en/>):

- Détermination du danger : Détermination des effets connus ou potentiels sur la santé, associés à un agent particulier. (<http://www.who.int/foodsafety/micro/riskassessment/en/>);
- Évaluation de la relation dose-réponse : Deuxième des quatre étapes de l'évaluation du risque, qui consiste à analyser la relation entre la quantité totale d'un agent absorbée par un groupe d'organismes et les changements observés dans ce groupe en réaction à

l'agent, ainsi que les inférences dérivées de cette analyse pour l'ensemble de la population. (http://glossary.eea.europa.eu/EEAGlossary/D/dose-response_assessment)

- ***Évaluation de l'exposition*** : Évaluation quantitative ou qualitative du contact entre une substance chimique et les limites extérieures du corps humain, qui tient compte de l'intensité, de la fréquence et de la durée du contact, de la voie d'exposition (p. ex., voie cutanée, orale ou respiratoire), du taux (taux d'ingestion ou d'absorption de produits chimiques), de la quantité réelle ayant traversé la barrière (dose) et de la quantité absorbée (dose interne) (IPCS, 1999) (<http://www.who.int/phe/>).

Climatère : Période de la vie correspondant à la ménopause.

Corps jaune : Le corps jaune (corpus luteum) est une formation temporaire, à l'intérieur de l'ovaire, qui résulte de la transformation du follicule de De Graaf (follicule mûr ou encore déhiscent) après expulsion de l'ovocyte lors de l'ovulation. Ce corps jaune, qui se forme donc dans la seconde partie du cycle de l'ovaire appelée phase lutéale, a pour fonction de sécréter de la progestérone sous contrôle d'une hormone hypophysaire, la LH. La progestérone a pour rôle de maintenir la muqueuse utérine apte à accueillir l'embryon lors de la nidation. En cas de non fécondation de l'ovule, le corps jaune dégénère, entraînant avec lui une diminution de la sécrétion de la progestérone et finalement l'apparition des règles correspondant au début d'un nouveau cycle. Si l'embryon s'implante, le corps jaune va se maintenir et produire de la progestérone pendant le début de la grossesse. Il disparaît vers le 3e ou 4e mois lorsque le placenta acquiert une autonomie suffisante.

Cryptorchidie : Chez le fœtus mâle, les testicules se développent dans la cavité abdominale, puis descendent dans le scrotum avant la naissance. La cryptorchidie, ou testicules non descendus, fait référence à l'absence d'un ou des deux testicules dans le scrotum à la naissance, ceux-ci étant maintenus dans la cavité abdominale. La cryptorchidie est assez répandue chez les prématurés et son incidence est d'environ 3 à 4% chez les bébés nés à terme; dans quelque 65% des cas, la descente des testicules dans le scrotum se produit avant l'âge de 9 mois. La cryptorchidie est un facteur de risque du cancer des testicules à un âge plus avancé.

Desmoplasie : Formation et développement d'un tissu fibreux.

Différenciation : Acquisition, par les cellules immatures, d'une fonction spécialisée ou d'une fonction spécifique du tissu.

EC50 : Effective Concentration (required to induce a 50% effect). En français, il s'agit de la Concentration Efficace 50, c'est à dire la concentration qui induit 50% de l'effet maximal en terme d'activité (liaison à un récepteur par exemple) ou d'individu (mortalité).

Endogène : Se dit d'une substance (chimique - hormone) qui est produite ou qui prend naissance dans l'organisme.

Endométriose : L'endométriose est caractérisée par la présence de tissu endométrial ectopique (localisé en dehors de l'utérus), soit au niveau des ovaires, des trompes, des ligaments utérins, du septum recto-vaginal, du péritoine pelvien. Comme l'endomètre utérin, ce tissu est soumis au cycle menstruel. L'étiologie de l'endométriose reste toujours très controversée.

Études épidémiologiques : L'épidémiologie est l'étude des facteurs qui conditionnent la santé et les maladies des populations. Elle cherche à la fois à quantifier la fréquence d'un événement de santé, et à identifier ses déterminants biologiques et médicaux, environnementaux, socio-économiques, etc. L'objectif final est d'identifier, pour pouvoir les limiter ou les éliminer, les facteurs (polluants atmosphériques, alimentation, etc.) en cause dans la survenue de l'événement de santé.

Exogène : Se dit d'une substance (chimique - hormone) qui est produite ou qui prend naissance en dehors de l'organisme.

Fécondité / Infécondité : Le concept est celui d'un état, avoir été impliqué (ou non) à un moment donné dans l'obtention d'une grossesse ou la naissance d'un enfant

Fertilité / Infertilité : Le concept est celui d'une capacité, avoir (ou non) les facteurs cliniques et biologiques nécessaires pour parvenir à une grossesse.

Gènes Hox : Morphogènes impliqués dans le développement et la différenciation de l'utérus, associés à la prolifération de l'endomètre. De nombreux xéno-œstrogènes peuvent altérer l'expression de ces gènes. Dans l'endomètre, les gènes Hoxa 10 et Hoxa 11 sont particulièrement importants pour la fertilité femelle, notamment pour permettre l'implantation.

Glandes surrénales : Les glandes surrénales sont au nombre de deux et sont situées sur la partie apicale des reins. Elles sont constituées d'une partie corticale et d'une partie médullaire. Cette dernière, appelée médullosurrénale, sécrète l'adrénaline, la noradrénaline et une petite quantité de dopamine. La couche externe de la glande, désignée corticosurrénale, élabore trois groupes de corticostéroïdes, soit les minéralocorticoïdes (aldostérone) qui contrôlent l'équilibre hydro-électrolytique, les glucocorticoïdes (cortisol) qui agissent sur le métabolisme des glucides et enfin les stéroïdes sexuels (androgènes, DHEA).

GnRH : Neuro hormone peptidique produite par l'hypothalamus responsable de la synthèse et de la sécrétion de FSH et de la LH par l'antéhypophyse. Le rôle des FSH-LH à leur tour est de stimuler les glandes génitales (gonades).

HOMA : « Homeostatic Model Assessment » est une mesure de la résistance à l'insuline, qui est associée au syndrome métabolique et au diabète de type II.

Hormones : Substances chimiques messagères sécrétées par les glandes endocrines et transportées par le sang jusqu'à d'autres tissus ou organes où elles exercent une action spécifique. Par exemple, l'insuline est une hormone qui aide notre organisme à digérer les aliments. Notre croissance, notre digestion et nos fonctions sexuelles et reproductrices sont toutes régulées par les hormones.

Hypophyse : L'hypophyse est la glande maîtresse de l'organisme. Elle sécrète un grand nombre d'hormones qui agissent sur le fonctionnement d'autres glandes endocrines.

Hypospadias : L'hypospadias est une anomalie congénitale relativement courante, qui se caractérise par la présence d'un malpositionnement du méat. Cette anomalie, dont la gravité varie, peut toucher jusqu'à 3 nouveau-nés de sexe masculin sur 1 000. Dans la plupart des cas, l'ouverture de l'urètre se trouve près de l'extrémité du pénis, sur le gland; dans les cas plus graves, toutefois, l'orifice est situé au milieu du corps ou à la base du pénis; il peut même être situé dans le scrotum ou le périnée (sous le scrotum).

Hypothalamus : L'hypothalamus est le siège de centres supérieurs du système neurovégétatif; il joue un rôle capital dans les équilibres vitaux (régulateur thermique, hydrique, comportement alimentaire, contrôle du comportement physique et émotif primitif). Il sécrète également des hormones régulatrices de la sécrétion des hormones hypophysaires, ainsi que deux hormones systémiques (p. ex., vasopressine).

Métabolite : Tout produit intermédiaire ou autre résultant du métabolisme (processus physiques et chimiques se produisant à l'intérieur d'un organisme). (www.biomonitoringinfo.org)

Modulateur endocrinien : Autre expression désignant une substance exogène ayant un effet modulateur sur le système endocrinien. Voir aussi Perturbateur endocrinien / Substance à action hormonale.

Œstrogène : Les œstrogènes sont des stéroïdes sécrétés par les ovaires, le placenta, le cortex surrénal et les testicules, qui déterminent les caractères sexuels féminins secondaires, et contrôlent le cycle menstruel et divers métabolismes.

Œstrogène environnemental : Phytœstrogènes (œstrogènes d'origine végétale présents dans certains végétaux comme le soja, les haricots et les grains) et produits chimiques d'origine anthropique, qui sont présents dans l'environnement et qui ont des propriétés œstrogènes. Voir aussi Perturbateur endocrinien /Modulateur endocrinien / Substance à action hormonale.

Ovaires : Glandes génitales femelles au nombre de deux, qui produisent les ovules (ovocytes). Les ovaires sont d'importantes glandes endocrines, qui sécrètent les œstrogènes et la progestérone, deux hormones qui assurent la régulation du cycle ovulatoire menant à la maturation et à la libération de l'ovule, ainsi que la préparation et le développement de l'utérus pour et durant la grossesse. Durant la puberté, les œstrogènes sont responsables de la manifestation des caractères sexuels secondaires (ex. seins, pilosité pubienne, etc.).

Pancréas : Les îlots de Langerhans du pancréas sécrètent deux hormones - l'insuline et le glucagon - essentielles à la régulation du taux de sucre dans le sang (glycémie). Les cellules β des îlots sécrètent le glucagon, qui élève le taux de glucose (sucre) en stimulant la dégradation du glycogène hépatique. Lorsque la glycémie est trop élevée, les cellules bêta du pancréas sécrètent l'insuline qui favorise l'absorption du glucose.

Parathyroïdes : Les parathyroïdes sont de petites glandes au nombre de quatre, qui sont fixées à la thyroïde et dont la fonction est de maintenir des taux normaux de calcium et de phosphate dans le sang, de manière à assurer la fonction normale des muscles et des nerfs.

Période d'exposition prénatale : Exposition survenant uniquement au cours de la gestation.

Période d'exposition périnatale : Exposition survenant au cours de la gestation et après la naissance.

Période d'exposition post-natale précoce ou néonatale : Exposition survenant au cours d'une période courte après la naissance.

Période d'exposition pubertaire : Période d'exposition survenant au moment de la puberté.

Période d'exposition à l'âge adulte : Période d'exposition survenant uniquement à l'âge adulte.

Perturbateur endocrinien : Substance ou mélange exogène altérant les fonctions de l'appareil endocrinien et induisant des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, voire de ses descendants. D'autres définitions sont proposées (Annexe 2).

Phytœstrogène : Œstrogène d'origine végétale présent dans le soja, les haricots et les grains.

Polluants organiques persistants (POPs) : Substances chimiques qui persistent dans l'environnement, qui font l'objet d'une bioaccumulation dans le réseau trophique et qui présentent un risque d'effets nocifs pour la santé humaine et l'environnement. Ce groupe de polluants d'intérêt prioritaire inclut les pesticides (comme le DDT), les produits chimiques industriels (comme les biphényles polychlorés ou BPC) et les sous-produits accidentels des procédés industriels (comme les dioxines et les furanes).

Polymorphisme : Variation dans la séquence de l'ADN, qui pourrait d'expliquer les différences phénotypiques entre les individus.

Produits chimiques non persistants : Substances facilement éliminées d'un environnement par des procédés physiques, chimiques ou biologiques.

Puberté précoce : La puberté précoce fait référence au développement prématuré des caractères corporels qui se manifestent habituellement à la puberté (période de la vie durant laquelle surviennent des changements physiques et physiologiques rapides, incluant le développement de la capacité de reproduction). La puberté survient habituellement entre l'âge de 13 à 15 ans chez les garçons et entre 9 et 16 ans, chez les filles.

Sex ratio: Le sex-ratio fait référence au nombre de naissances masculines vivantes divisé par le nombre total de naissances, durant une période donnée.

Syndrome de dysgénésie testiculaire : Skakkebæk et ses collaborateurs à Copenhague ont émis l'hypothèse que le cancer du testicule, la mauvaise qualité spermatique, l'hypospadias et la cryptorchidie, étaient interdépendants et seraient la conséquence d'une perturbation du développement testiculaire in utero. Ce concept appelé « **syndrome de dysgénésie testiculaire** » (testicular dysgenesis syndrome, TDS ; Skakkebaek *et al.* se fonde sur la juxtaposition de données cliniques, épidémiologiques et de données scientifiques indiquant l'origine foetale du cancer du testicule, le lien établi entre malformations génitales chez les garçons nouveau-nés et les troubles de la reproduction à l'âge adulte, et sur des observations provenant d'études expérimentales chez l'animal (Skakkebaek *et al.*, 2001). Notamment la juxtaposition des données épidémiologiques concernant les pays voisins que sont le Danemark et la Finlande indiquent un parallèle entre ces deux pays pour toutes les anomalies concernées, les fréquences les plus élevées d'hypospadias, de cryptorchidie, de cancer du testicule et la plus médiocre qualité du sperme étant observées au Danemark. Toutes ces données suggèrent que la période prénatale constituerait la phase la plus vulnérable où une anomalie de la différenciation des testicules entraînerait des effets néfastes permanents. Cette anomalie du développement testiculaire pourrait être la conséquence de défauts ou polymorphismes génétiques, d'une exposition à des facteurs nocifs de l'environnement, de facteurs liés au style de vie, de troubles de la croissance intra-utérine et possiblement, de plusieurs de ces facteurs à la fois.

Syndrome métabolique (définition selon le NCEP-ATPIII (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III) et l'IDF (Fédération internationale du diabète) :

Le diagnostic, selon la définition du NCEP-ATPIII (National Cholesterol Education Program) Adult Treatment Panel III) (William & Wilkins 2002), requiert l'association d'au moins trois des critères suivants:

- Obésité centrale (viscérale) : tour de taille supérieur à 102 cm (hommes) ou supérieur à 88 cm (femmes) ;
- Hypertriglycéridémie : triglycérides supérieurs ou égaux à 1,7 mmole/l (1,50 g/l) ;
- HDL cholestérol bas : inférieur à 1,03 mmol/l (0,40 g/l) [hommes] ou inférieure à 1,29 mmole/l (0,50 g/l) [femmes] ;
- Élévation de la pression artérielle : pression artérielle supérieure ou égale à 130/85 mm Hg ou traitement de cette élévation ;
- Glycémie à jeun supérieure ou égale à 6,1 mmole/l (1,10 g/l).

Le diagnostic selon la définition de l'IDF requiert comme critère obligatoire l'obésité viscérale (centrale) définie par un tour de taille supérieur ou égal à 94 cm (hommes) ou supérieur ou égal à 80 cm (femmes) avec au moins deux autres signes cliniques ou biologiques parmi les suivants :

- Hypertriglycéridémie : triglycérides supérieurs ou égaux à 1,7 mmol/l (1,50 g/l) ou bien traitement spécifique de cette anomalie ;
- HDL cholestérol bas : inférieur à 1,03 mmol/l (0,40 g/l) [hommes] ou inférieure à 1,29 mmol/l (0,50 g/l) [femmes] ou bien traitement spécifique de cette anomalie ;
- Élévation de la pression artérielle : pression artérielle systolique supérieure ou égale à 130 ou diastolique supérieure ou égale à 85 mmHg ou bien hypertension artérielle traitée ;
- Glycémie à jeun supérieure ou égale à 5,6 mmole/l (1,0 g/l) ou bien diabète de type 2 connu (IDF, 2011).

Syndrome des ovaires polykystiques est un désordre hormonal caractérisé par une augmentation inhabituelle des androgènes (hormones mâles) dans les ovaires, ce qui nuit à la maturation des ovules ; au lieu d'être libérés au moment de l'ovulation, les ovules se transforment en kystes qui s'accumulent dans les ovaires.

Système endocrinien : Le système endocrinien désigne un réseau de glandes réparties à travers l'organisme. Ces glandes sécrètent des hormones qui sont libérées dans la circulation et qui parviennent à leur cible par le sang. Les hormones sécrétées par ces glandes servent de messagers chimiques qui contrôlent diverses fonctions, notamment la croissance, le métabolisme, le développement sexuel et la production des ovules et des spermatozoïdes.

Testicules : Glandes génitales mâles au nombre de deux. Les testicules produisent les cellules germinales mâles, ou spermatozoïdes. Les testicules sont également d'importantes glandes endocrines qui produisent les hormones sexuelles mâles, comme la testostérone et d'autres androgènes. Ces hormones jouent un rôle important dans la régulation de la spermatogenèse (production de spermatozoïdes), la différenciation sexuelle du fœtus masculin et le développement des caractères sexuels secondaires à la puberté comme l'apparition de la pilosité, la mue de la voix, etc.

Thyroïde : La thyroïde est constituée de deux lobes reliés par un isthme, derrière le larynx. La thyroïde sécrète les hormones thyroïdiennes T3 (triiodothyronine) et T4 (thyroxine ou tétraiodothyronine) qui régulent le métabolisme des cellules de l'organisme. Les troubles de la thyroïde se caractérisent par une incapacité de produire ou de libérer une quantité suffisante d'hormones thyroïdiennes (hypothyroïdie) ou, au contraire, par une hyperactivité de la thyroïde (hyperthyroïdie).

Liste des tableaux

Tableau I : Identification du bisphénol A (Anses, 2011)	50
Tableau II : Propriétés physico-chimiques du bisphénol A (Anses, 2011)	51
Tableau III : Études épidémiologiques humaines de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures et relatives à l'étude des hormones sexuelles masculines	86
Tableau IV : Etudes épidémiologiques humaines de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures et relatives à l'étude de la qualité des gamètes mâles.....	87
Tableau V : Tableau récapitulatif des études animales sur les effets du bisphénol A sur l'appareil reproducteur mâle	98
Tableau VI : Tableau récapitulatif des études animales sur les effets du bisphénol A sur le système reproducteur femelle	111
Tableau VII : Tableau récapitulatif des études animales sur les effets sur l'ouverture vaginale, sur l'âge au premier oestrus du bisphénol A	117
Tableau VIII : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur le cerveau et le comportement	135
Tableau IX : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur le métabolisme et le système cardiovasculaire	148
Tableau X : Tableau récapitulatif des études animales sur les effets du bisphénol A sur la thyroïde	157
Tableau XI : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur le système immunitaire	164
Tableau XII : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur l'intestin	167
Tableau XIII : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur la prostate.....	177
Tableau XIV : Comparaison des lésions histopathologiques pré-néoplasiques et néoplasiques de la glande mammaire, induites chez le rat pré-pubère, avec celles décrites chez l'Homme.....	187
Tableau XV : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur le cancer du sein.....	188
Tableau XVI : Quelques données de toxicité aiguë du bisphénol A chez le poisson	193
Tableau XVII : Comparaison des lésions histopathologiques pré-néoplasiques et néoplasiques de la glande mammaire, induites chez le rat pré-pubère, avec celles décrites chez l'Homme.....	290

Liste des figures

Figure 1 : Comparaison des périodes de différenciation ovarienne chez différents mammifères (Inserm, 2011)	67
Figure 2 : Diagramme représentant les principales périodes du développement du tractus génital mâle chez l'humain et le rat, en relation avec le niveau de production de testostérone (Inserm, 2011) et d'après (Welsh <i>et al.</i> , 2008)	68
Figure 3 : Arbre de décision.....	72
Figure 4 : Voies métaboliques majeures du BPA chez les mammifères (Inserm, 2011)	79
Figure 5 : Effet du BPA sur l'anxiété et le comportement exploratoire en fonction de l'exposition	130
Figure 6 : Présentation schématique des protocoles expérimentaux analysant l'effet d'une exposition développementale au BPA sur la fonction thyroïdienne des jeunes	152
Figure 7 : Arbre de décision.....	200
Figure 8 : Diagramme représentant les principales périodes du développement du tractus génital mâle chez l'humain et le rat, en relation avec le niveau de production de testostérone (Welsh <i>et al.</i> , 2008)	203
Figure 9 : Comparaison des périodes de différenciation ovarienne chez différents mammifères (Inserm, 2011)	204
Figure 10 : Représentation schématique des périodes de développement de la prostate chez l'homme <i>versus</i> rongeur	204
Figure 11 : Période de développement de la thyroïde et du cerveau de la conception à la naissance (Bayer <i>et al.</i> , 1993; Howdeshell 2002)	205
Figure 12 : Période de développement de la thyroïde et du cerveau de la conception au PND20 chez le rat. GD0 correspond au jour de la conception et PND1 correspond au jour de la naissance	206

Liste des annexes

Annexe 1 : Lettres de saisine	247
Annexe 2 : Définitions des Perturbateurs Endocriniens	251
Annexe 3 : Effets sur le développement autres que des atteintes du système reproducteur mâle et femelle	253
Annexe 4 : Effets chroniques.....	256
Annexe 5 : Effets cancérogènes.....	258
Annexe 6 : Génotoxicité.....	259
Annexe 7 : Tableau récapitulatif des études épidémiologiques analysées dans le cadre de ce rapport.....	260
Annexe 8 : Etat des connaissances sur les lésions prénéoplasiques du sein - Eléments de langage	283
Annexe 9 : Note de synthèse sur les cancers mammaires chez les rongeurs.....	289
Annexe 10 : Présentation des positions divergentes	292
Annexe 11 : Synthèse des déclarations publiques d'intérêts des experts par rapport au champ de la saisine	293

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

Le bisphénol A ou BPA (2,2-bis(4-hydroxyphényle) propane, N° CAS 80-05-7) est un produit chimique phénolique utilisé depuis plus de 50 ans, principalement comme monomère dans la production de plastiques polycarbonate et de résines époxydes. Il est également utilisé comme composant des résines polyester, polysulfone et polyacrylate et intervient dans la synthèse des ignifugeants. Les polycarbonates entrent dans la composition d'un très grand nombre d'objets courants (CD, lunettes, bouteilles plastiques, biberons), alors que les résines époxydes sont principalement utilisées pour réaliser le revêtement des boîtes de conserves ou des amalgames dentaires. Le BPA est aussi utilisé comme révélateur dans les papiers thermiques.

En 2006, la production mondiale de BPA s'élevait à environ 3,8 millions de tonnes, utilisées aux deux tiers pour la fabrication du polycarbonate et pour un tiers pour celle de résines.

Le BPA a été listé en tant que perturbateur endocrinien de catégorie 1 (CE, 2002; DHI, 2007)

De très nombreuses études ont été consacrées à la caractérisation de la toxicité et des effets endocriniens du BPA chez l'animal. Certaines de ces études ont été réalisées, en respectant les lignes directrices réglementaires de l'OCDE sur des groupes suffisants d'animaux et avec plusieurs niveaux de doses testés. D'autres travaux issus d'instituts de recherche et de laboratoires universitaires ont, par ailleurs, été souvent basés sur un nombre d'animaux et de doses plus restreint. Les résultats et conclusions de ces différentes études ne sont toutefois pas consensuels, qu'il s'agisse de la nature des effets observés, du moment de leur survenue ou encore des niveaux de doses auxquels ils se sont produits.

Ainsi, le lien entre l'exposition au BPA et certaines pathologies, telles que cancers de la prostate ou du sein, obésité, diabète, dysfonctionnements thyroïdiens, troubles du comportement et de la reproduction reste un sujet discuté.

Le BPA fait aujourd'hui, et déjà depuis quelques années, l'objet d'une attention particulière au niveau international. Au vu des inquiétudes soulevées par cette substance, le Canada est devenu, le 11 mars 2010, le premier pays dans le monde à interdire les biberons contenant du BPA. Aux États-Unis, plusieurs États ont interdit le BPA dans les biberons et les six principaux fabricants de biberons ont déjà cessé toute commercialisation des articles contenant du BPA. En France, à l'issue de sa récente expertise de 2010, l'Afssa (aujourd'hui Anses) avait également reporté des

« signaux d'alerte » identifiés dans la littérature. La loi « tendant à suspendre la commercialisation de biberons produits à base de bisphénol A » a été publiée au journal officiel le 1^{er} juillet 2010.

1.2 Objet de la saisine

Par courrier du 4 juin 2009, la direction générale de la santé (DGS) a saisi l'Agence en vue de demander une expertise sur les risques sanitaires pour le consommateur liés à des substances reprotoxiques et/ou perturbateurs endocriniens présents dans des produits et/ou articles mis sur le marché, dont le bisphénol A (BPA).

Par courrier daté du 18 février 2010, l'Anses a été saisie par la direction générale de la prévention des risques (DGPR) afin d'évaluer les risques sanitaires résultant d'une exposition de l'Homme au BPA *via* l'environnement. Ainsi, l'Anses devra :

- faire une synthèse des effets sur la santé humaine,
- identifier les usages conduisant à une exposition humaine,
- caractériser les expositions,
- évaluer la faisabilité et la pertinence de conduire une évaluation des risques sanitaires.

L'Anses est également chargée :

- de dresser un bilan des recherches en cours sur le BPA et ses substituts,
- d'identifier les substituts et leurs dangers,
- de formuler des recommandations sur la prise en compte du bisphénol A dans le cadre du règlement (CE) n° 1907/2006 REACH.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » l'instruction de ces saisines. Ce dernier a mandaté le groupe de travail « Perturbateurs endocriniens et reprotoxiques de catégorie 3 » pour la réalisation des travaux d'expertise.

Les travaux d'expertise du groupe de travail ont été soumis régulièrement au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

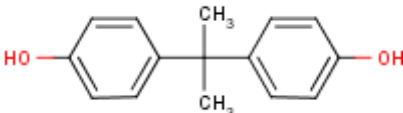
Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

2 Informations sur le bisphénol A

2.1 Identification de la substance

Tableau I : Identification du bisphénol A (Anses, 2011)

Numéro du registre du Chemical Abstracts Service (n°CAS)	80-05-7
N° EINECS (European INventory of Existing Commercial chemical Substances)	201-245-8
Nom chimique (ESIS : European chemical Substances Information System)	4,4'-isopropylidenediphenol
Nom IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry)	2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (aussi nommé 4,4'-isopropylidenediphenol ou bisphénol-A)
Quelques synonymes (ChemiDplus, UE RAR, 2008)	Bisphénol A ou BPA (Abréviation commune) p,p'-Isopropylidene-bisphenol p,p'-Isopropylidene-di-phenol 4,4'-Isopropylidene bisphenol 4,4'-(1-methylethylidene)bisphenol
Sous-groupe chimique	Phénols
Formule chimique	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Structure chimique	

2.2 Pureté

La pureté du bisphénol A est de 99-99,8%, dépendant du fabricant. Les impuretés sont le phénol (< 0,06%) et des ortho- et para- isomères de bisphénol A (< 0,2%) (CE, 2010a).

2.3 Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques du BPA sont présentées dans le Tableau II.

Tableau II : Propriétés physico-chimiques du bisphénol A (Anses, 2011)

Constantes physico-chimiques	Valeur	Valeurs expérimentales ou modélisées
Forme physique (à T° ambiante)	Solide blanc pouvant se présenter sous forme de poudre, écailles ou cristaux, avec une faible odeur phénolique	Valeur expérimentale
Poids moléculaire (g/mol)	228,3	Non précisé
Point d'ébullition (°C)	250-252°C sous 1,7 kPa 360°C sous 101,3 kPa	Valeur expérimentale
Point de fusion (°C)	150-157°C	Valeur expérimentale
Point éclair coupelle fermée (°C)	207 à 227°C	Non précisé
Limite Inférieure d'Explosivité (LIE)	12 g/m ³ avec oxygène > 5%	Non précisé
Limite Supérieure d'Explosivité (LSE)	Non précisé	Non précisé
Pression de vapeur (Pa)	5,3.10 ⁻⁶ à 25°C	Valeur expérimentale
Densité vapeur	Non précisé	Non précisé
Densité liquide	1,1 à 1,2	Non précisé
Facteur de conversion	1 ppm = 9,3366 mg/m ³ A 25°C et 1atm	Non précisé
Solubilité dans l'eau (mg/L)	120 - 300 à 25°C	Valeur expérimentale
Log Kow	3,32-3,4	Valeur expérimentale
Koc (L/kg)	715	Valeur modélisée

2.4 Devenir dans l'environnement

Une demi-vie atmosphérique courte de 0,2 jours a été calculée pour la réaction du BPA avec des radicaux hydroxyles. Le BPA rejeté dans l'atmosphère devrait se retrouver en majeure partie dans la phase particulaire (Santé Canada, 2008).

Le bisphénol A est facilement biodégradable dans les eaux de surfaces naturelles et dans le sol (CE, 2010a). Selon les données disponibles, le BPA n'est pas persistant en conditions aérobies.

En revanche, en l'absence d'oxygène ou en présence d'une faible teneur en oxygène, il ne se dégraderait pas ou que lentement (Santé Canada, 2008).

Le BPA possède une mobilité faible à modérée dans le sol.

En tant que substance modérément hydrophobe et soluble dans l'eau, le BPA devrait se répartir dans les phases organiques comme les sédiments et les particules du sol, une fraction appréciable devrait toutefois aussi être présente dans la phase dissoute (Santé Canada, 2008).

2.5 Réglementation européenne¹²

Selon la directive 67/548/CEE (30^{ème} ATP : directive 2008/58/CE du 21 Août 2008), le bisphénol A est classé :

- Toxique pour la reproduction catégorie 3 ; R62
- Irritant : R 37-41
- Sensibilisant : R 43
- Dangereux pour l'environnement ; R52

Selon le règlement CLP (règlement (CE) n°790/2009 de la commission du 10 août 2009 modifiant le règlement (CE) n°1272/2008), le Bisphénol A est classé pour sa :

- Toxicité pour la reproduction catégorie 2, H 361f - Toxicité spécifique pour certains organes cibles
- Exposition unique, catégorie 3 : Irritation des voies respiratoires ; H 335
- Lésions oculaires graves catégorie 1 ; H 318
- Sensibilisation cutanée, catégorie 1 : H 317

Le BPA n'est pas inscrit à l'annexe I du règlement (CE) No 689/2008 du parlement européen et du conseil du 17 juin 2008 concernant les exportations et les importations de produits chimiques dangereux.

¹² La réglementation, et en particulier la réglementation internationale, sera développée dans le rapport final d'évaluation des risques du bisphénol A.

Le BPA est autorisé dans les matériaux en contact avec des aliments dans l'Union européenne, conformément au règlement (UE) No 10/2011 de la Commission européenne du 14 janvier 2011. Dans ce cadre, le BPA est autorisé pour la fabrication de matériaux en contact avec les aliments avec une limite de migration spécifique de 0,6 mg/kg dans les aliments.

- **Règlement REACH (CE) n°1907/2006 (Anses, 2011)**

Le bisphénol A entre dans le champ du Règlement (CE) n°1907/2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (ECHA 2007).

Toutes les entreprises fabricantes, importatrices et/ou utilisatrices de substances chimiques sont concernées par ce règlement qui vise à évaluer et à contrôler les substances chimiques fabriquées, importées et utilisées à raison de plus d'une tonne par an sur le marché européen, afin d'en réduire les risques pour la santé et l'environnement liés à leurs utilisations. La procédure REACH prévoyait une phase de pré-enregistrement des substances du 1^{er} juin 2008 au 1^{er} décembre 2008 pour toutes les substances mises sur le marché de l'UE avant le 19 septembre 1981 (ECHA 2007a). Le bisphénol A figure dans la liste des substances pré-enregistrées par les fabricants et importateurs publiée par l'ECHA en janvier 2009 (ECHA 2009).

Après la phase de pré-enregistrement, les fabricants importateurs devaient enregistrer les substances auprès de l'ECHA avant le 1^{er} décembre 2010 si celles-ci étaient :

- Produites ou importées dans une quantité supérieure ou égale à 1000 tonnes/an,
- CMR 1 et 2 produites ou importées à plus de 1 tonne/an,
- Classées R50/53 produites ou importées à plus de 100 tonnes/an.

Au 30 novembre 2010, 4300 substances ont été enregistrées auprès de l'Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA) qui a reçu au total 24 675 dossiers. Concernant le bisphénol A, au moins un dossier complet (au titre de l'annexe X de REACH) a été déposé lors de la première vague d'enregistrements de substances supérieures à 1000 tonnes.

Nota bene : le BPA a fait l'objet du dépôt d'un dossier au format Annexe XV dans le cadre des mesures de transitions prévues par l'article 136(3) de REACH auprès de l'agence européenne des produits chimiques,

en 2009¹³. Dans ce dossier, le rapporteur a examiné uniquement les scénarios ayant conduit à une conclusion iii pour l'exposition humaine dans le RAR (Risk Assessment Report).

2.6 Production et utilisations

Le BPA est principalement utilisé en tant que monomère pour la fabrication de polycarbonates, polymères employés dans l'industrie du plastique pour fabriquer un très grand nombre d'objets courants tels que les DVD, les lunettes, les bouteilles plastiques, les toits et phares de voitures,... Le bisphénol A est également utilisé en tant que réactif dans la fabrication de résines, les plus courantes étant les résines époxydes. Celles-ci se retrouvent majoritairement dans les revêtements de containers utilisés en milieu marin, ainsi que dans le revêtement intérieur des canettes et boîtes de conserve.

Il existe d'autres usages, mais mineurs, du bisphénol A. Celui-ci intervient en tant que révélateur dans les papiers thermiques, eux-mêmes présents dans les tickets de caisse,... Le BPA sert également à la fabrication de deux retardateurs de flamme : le tétrabromobisphénol A et le bisphénol A bis (diphénylphosphate).

Le bisphénol A est également utilisé en tant qu'agent antioxydant dans le secteur automobile. Il joue également un rôle d'additif dans la fabrication de polyamides, de réactif dans la synthèse de bisphénol A éthoxylé et de précurseur dans la synthèse des benzoxazines. Enfin, quelques utilisations ont été identifiées en dehors de la France telles que composant de fluides caloporteurs et de lubrifiant, agent de traitement pour le resurfaçage du béton, formulant de fongicides.

Pour plus de détails, se reporter au rapport détaillé sur les usages du BPA (Anses, 2011).

¹³http://echa.europa.eu/doc/trd_substances/4_4_isopropylidene_diphenol_bisphenol_a/ann_xv_trd/trd_uk_bisphenol_a.pdf*

3 Considérations générales

3.1 Mécanismes d'action

La connaissance des mécanismes d'action du BPA est un élément important à prendre en considération si l'on veut pouvoir transposer à l'Homme les effets observés chez l'animal. Le BPA est reconnu comme un agoniste faible des récepteurs aux œstrogènes α et β (ER α et ER β). L'ensemble des mécanismes d'action du BPA ne sont certainement pas encore connus. Cependant, un nombre croissant d'études *in vitro* ou moléculaires suggère que l'interprétation des effets toxicologiques du BPA ne peut se limiter à un mécanisme œstrogénique classique (NTP-CERHR, 2008). Le BPA pourrait également interagir avec d'autres récepteurs cellulaires tels que le récepteur aux androgènes AR et entraîner un effet anti-androgénique modéré, le récepteur des hydrocarbures aromatiques (AhR), le récepteur transmembranaire des œstrogènes, les récepteurs des hormones thyroïdiennes (HT) mais également au récepteur transmembranaire GPR30 impliqué dans la prolifération cellulaire (Bonaccorsi *et al.*, 2008; Inserm, 2011; Iordanidou *et al.*, 2010). Par ailleurs, le BPA diglycidyl éther (BADGE) et le BPA, sont capables d'induire l'expression du récepteur nucléaire impliqué dans la prolifération des peroxysomes PPAR γ (Bishop-Bailey *et al.*, 2000; Kwintkiewicz *et al.*, 2010). Très récemment, le BPA a également été identifié comme un ligand du récepteur γ apparenté aux récepteurs aux œstrogènes (ERR γ), dont on ignore les ligands naturels et les fonctions physiologiques précises. Par conséquent, une interprétation des effets du BPA uniquement sous l'angle d'un effet œstrogénomimétique serait réducteur. L'implication de plusieurs de ces systèmes lors d'une exposition au BPA pourrait expliquer certains effets observés à des faibles doses, du fait d'une synergie d'action possible, mais aussi les relations dose-réponse non monotones rapportées dans certaines études. En effet, on peut très bien imaginer que des réponses fortes à des faibles doses sur une voie hormonale donnée, puisse déclencher des phénomènes de rétrocontrôle, bien connu pour certaines hormones, et qu'à des doses plus élevées de BPA, les effets observés soient moindres. Enfin, des mécanismes d'action autres que ceux passant par des liaisons à des récepteurs hormonaux sont également évoqués, tels que l'activation de l'expression de certains gènes au niveau embryonnaire, ou la modulation de systèmes de second messager.

3.2 Modèles d'étude

3.2.1 Études épidémiologiques

Les études épidémiologiques fournissent des données très appréciées pour mettre en évidence des associations entre l'exposition à une substance et la présence d'effets sanitaires, puisqu'elles s'affranchissent des transpositions de l'animal à l'Homme. Cependant, les données épidémiologiques recensées pour ce travail présentent de nombreuses limites qui rendent difficile leur utilisation en vue de déterminer une association entre des effets sanitaires et une exposition au BPA.

Tout d'abord, de nombreuses études sont pénalisées par des biais méthodologiques classiques (taille trop limitée des échantillons, choix de la population exposée et des témoins, mode de recueil des données,...).

Ensuite, beaucoup d'études épidémiologiques sont des études transversales qui incluent un seul prélèvement comme mesure d'exposition. De manière générale, les études transversales sont rarement adaptées à l'étude d'effets nécessitant un long temps de latence. En effet, l'extrapolation d'une seule mesure d'exposition à une période contemporaine de l'étude ne saurait être représentative de l'exposition ayant conduit à l'initiation de la pathologie, en raison notamment de l'évolution des usages et de l'exposition à la substance. Cependant, dans ce cas précis, le BPA est une substance ubiquitaire dont l'exposition est récurrente et la demi-vie courte comparée à d'autres contaminants environnementaux. La réalisation d'un prélèvement unique afin d'évaluer l'imprégnation moyenne d'une population peut donc dans certains cas (par exemple : taille d'échantillon suffisante et prélèvements aléatoires dans la journée) être légitime (Ye *et al.*, 2011). Par ailleurs, les études transversales peuvent convenir dans les 2 cas suivants :

- L'étude d'association entre l'exposition au temps t et un effet à court terme (par exemple, l'association entre une mesure unique du BPA plasmatique et le taux plasmatique d'une hormone dans le cas de figure où le BPA induit une modification de sécrétion, synthèse, transport et métabolisme des hormones.
- L'étude d'un effet résultant d'une exposition lors d'une fenêtre de susceptibilité connue et bien définie permettant de caractériser l'exposition à la période la plus pertinente par rapport à l'effet attendu.

L'analyse des limites des études épidémiologiques doit donc être faite au cas par cas, en tenant compte de la période d'exposition par rapport aux phases critiques du développement, de la période de dosage du BPA en particulier pour l'évaluation d'effets différés résultant d'une exposition au cours du développement.

Enfin, certaines études ont été exclues à cause de biais notoires de sélection de la population étudiée, de biais en rapport avec l'évaluation de l'exposition (prélèvements sanguins conservés dans des tubes en plastique comportant du BPA) ou d'imprécisions dans la mesure de l'effet sanitaire (auto-questionnaire).

Pour ce travail, 29 études épidémiologiques ont été recensées et évaluées. Onze études n'ont pas été retenues pour la caractérisation des effets sanitaires car celles-ci présentaient des limites méthodologiques majeures. L'analyse de ces études est décrite dans le chapitre 6.1.

3.2.2 Études expérimentales

De nombreux paramètres peuvent influencer les résultats d'études expérimentales. Ils sont d'autant plus importants à considérer que les doses administrées lors des études sont faibles, voire dans certains cas proches des niveaux de contamination constituant le bruit de fond environnemental et que les effets observés sont également sensibles et soumis à une grande variabilité. L'étude de la toxicité des perturbateurs endocriniens et du BPA en particulier s'inscrit largement dans cette problématique. L'absence de considération de ces paramètres dans le protocole de l'étude peut ainsi, dans certains cas, être à l'origine de biais dans les résultats observés. Les principaux paramètres sont ainsi détaillés dans l'annexe de l'avis de l'Afssa du 29 janvier 2010 (Afssa, 2010a).

Les expertises réalisées par d'autres organismes nationaux ou internationaux abordent également pour la plupart cette question. Ainsi, Santé Canada dans son rapport de 2008 considère que les résultats divergents de l'exposition au BPA à de faibles doses pourraient être expliqués par un certain nombre de variables expérimentales (Santé Canada, 2008). Par exemple, parmi ces paramètres, on compte le choix des espèces animales, les souches utilisées, la variabilité liée aux tissus, la nourriture et en particulier la teneur en contaminants œstrogéniques, l'emploi inapproprié ou l'absence de témoins positifs et la considération d'effets liés à l'exposition qui présentent une courbe dose-réponse non monotone (Richter *et al.*, 2007; vom Saal et Hughes, 2005) (vom Saal *et al.*, 2005). En outre, la période d'exposition par rapport aux phases critiques du développement du BPA est une considération importante, en particulier pour l'évaluation d'effets différés résultant d'une exposition au cours du développement. Par ailleurs, la nature des effets est telle qu'il est difficile de caractériser le degré de « nocivité » potentielle et, par conséquent, de déterminer l'importance à leur donner dans une évaluation du risque pour la santé humaine ».

Dans le cadre de cette expertise de l'Anses, en fonction de la prise en compte ou non de certains de ces biais lors de l'analyse des études, celles-ci ont pu ou non être retenues pour l'évaluation de la toxicité du BPA. Ainsi, les experts du groupe de travail ont considéré les points suivants :

- Choix de l'espèce et de la souche animale,
- Taille de l'échantillon,
- Présence ou non d'un ou plusieurs groupes contrôles positifs,
- Nature des cages et des récipients (biberons,...),
- Composition de la litière, du régime alimentaire et qualité de l'eau,
- Voie d'exposition et mode d'administration.

Certains paramètres tels que la voie d'exposition, le mode d'administration du BPA (gavage, perfusion, injection,...), la période d'exposition (*in utero*, pendant la lactation, à l'âge adulte,...) ou la co-exposition à des oestrogénomimétiques sont importants à évaluer pour interpréter les résultats de l'étude. Ils ne constituent cependant pas à proprement parler des limites méthodologiques majeures susceptibles de mettre en cause la qualité de l'étude. Les études dont les méthodes présentent des limites méthodologiques non majeures n'ont donc pas été écartées *a priori*. Le groupe de travail ayant considéré que le lot traité et le lot non traité subissent les mêmes co-expositions. Le risque n'est donc pas de mettre en évidence un effet qui n'existe pas mais plutôt une perte de puissance de l'étude. Bien qu'avec pondération, ces études présentant des « limites méthodologiques non majeures » participent au faisceau de preuves que constitue l'ensemble des études et qui est construit selon une méthode détaillée dans la partie 4. En revanche, les études réalisées sans contrôle négatif ont été considérées comme présentant une limite méthodologique majeure et n'ont pas été retenues pour l'évaluation des effets sanitaires.

En outre, dans la plupart des études expérimentales, il ne figure que très rarement des données d'exposition interne, ce qui est un obstacle important pour juger de la pertinence des schémas d'exposition expérimentaux par rapport au niveau de contamination des populations humaines.

3.2.2.1 Choix des animaux de laboratoire : espèce, souche et origine

Il a été prouvé que les différentes espèces animales n'ont pas la même sensibilité aux composés hormono-mimétiques. De plus, au sein d'une même espèce, la sensibilité des souches peut varier ; c'est pourquoi le NTP en 2001 précise qu'à cause des différences de sensibilité clairement démontrées entre les espèces et les souches, la sélection du modèle animal doit être basée sur la capacité à répondre aux molécules dotées d'une activité endocrine (*i.e.* la réponse aux contrôles positifs) et pas par convenance et habitude (NTP, 2001).

Comme pour beaucoup de substances chimiques, le plus grand nombre d'études expérimentales porte sur les rongeurs. Selon Chapel Hill, le rat Sprague-Dawley (SD) commercialisée par les laboratoires Charles River (CD-SD) aurait perdu une sensibilité aux estrogènes exogènes (Richter *et al.*, 2007). Cependant, cette observation est à moduler en fonction du paramètre analysé (EDMVS, 2003) et d'autres auteurs ont mis en évidence des effets à faible dose d'œstrogènes en utilisant la souche de rat SD : par exemple, dans une étude 4 générations associant des expositions à différentes fenêtres de développement et une étude de toxicité chronique, l'hyperplasie mammaire chez les mâles a été induite à 0,2 µg/kg pc/j d'EE2 (Latendresse *et al.*, 2009).

Selon Richter *et al.*, la souche CD-SD a été conçue par le laboratoire Charles River à partir de la souche Sprague Dawley en 1950 (Richter *et al.*, 2007). Cette colonie a été continuellement soumise à un élevage sélectif se basant sur la rapidité de la croissance post-natale et la grande taille des portées. Puis en 1991 et 1997, de nouvelles colonies ont été établies à partir d'animaux sélectionnés (vom Saal et Hughes, 2005). Spearow *et al.* ont observé que les rongeurs sélectionnés pour leur grande fécondité et leur taux de croissance élevée telle que la souris CD-1 étaient plus œstrogénorésistants (Spearow *et al.*, 1999), et cette observation concorde avec la perte de sensibilité œstrogénique des rats CD-SD rapportée par Chapel Hill. De même, selon le NTP 2008, « *il est certain que la souche de rat SD et d'autres souches sont moins sensibles aux effets des estrogènes que la souche F344. Cependant, pour certains effets, l'inverse est vrai* ».

3.2.2.2 Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon est un facteur entrant dans la classification des études. Les faibles effectifs peuvent conduire à une faible puissance et donc à la non-mise en évidence d'effets existants. Cependant, aucun effectif minimum n'est à exiger des études, car il dépend de l'incidence de l'effet recherché dans le groupe témoin et de sa variabilité. D'après le NTP-CERHR, une taille de 6 animaux par expérience et par dose paraît raisonnable pour des effets à faible degré de variabilité (ex. poids corporel), mais n'est pas suffisant pour des effets à forte variabilité interindividuelle (taux d'hormones circulantes,...) (NTP-CERHR, 2008).

3.2.2.3 Contrôle positif

L'avis du NTP-CERHR concorde avec l'opinion de plusieurs panels de scientifiques sur le fait que l'utilisation d'un groupe contrôle positif peut être très utile sur l'évaluation de la sensibilité et de la performance d'un modèle expérimental (NTP-CERHR, 2008). Selon le panel d'experts réuni à Chapel Hill, une étude sans contrôle positif doit être considérée comme ininterprétable (Richter *et al.*, 2007), alors que le NTP estime que le contrôle positif n'est pas indispensable dans les études animales, surtout lorsque sont utilisés des modèles animaux bien connus pour la caractérisation de certains effets (NTP-CERHR, 2008). En revanche, les 2 panels s'accordent sur le fait qu'une étude ne montrant aucun effet dans les groupes traités et dont le contrôle positif n'a pas non plus d'effet significatif est non recevable.

Selon le NTP, les substances les plus utilisées en tant que contrôles positifs sont le diéthylstilbestrol (DES), l'éthinylestradiol (EE2), le 17 β -œstradiol et le benzoate d'œstradiol (NTP-CERHR, 2008). Ce sont eux qui ont conduit initialement à considérer le BPA comme un œstrogénomimétique. Cependant, le 17 β -œstradiol ne peut pas être utilisé comme contrôle positif pour les études utilisant la voie orale car seulement 3% de la dose est absorbée (vom Saal et Welshons, 2006).

Lors des précédentes évaluations des effets du BPA, les études à l'issue desquelles aucune réponse n'était observée pour le contrôle positif ont généralement moins compté pour évaluer les effets du bisphénol A. De plus, bien que les estrogènes naturels ou de synthèse soient utilisés en contrôle positif du BPA, un nombre croissant d'études *in vitro* ou moléculaires suggère que l'interprétation des effets toxicologiques du BPA ne peut se limiter à un mécanisme œstrogénique classique (NTP-CERHR, 2008). L'Inserm précise que le BPA est un agoniste faible des estrogènes pouvant se lier aux récepteurs nucléaires ER α et ER β , mais qu'il est aussi susceptible de se lier à d'autres récepteurs nucléaires comme le récepteur des androgènes AR et entraîner un effet anti-androgénique modéré (Inserm, 2011). Par ailleurs, le BPA diglycidyl éther (BADGE) et le BPA, sont capables d'induire l'expression du récepteur nucléaire impliqué dans la prolifération des peroxysomes PPAR γ (Bishop-Bailey *et al.*, 2000; Kwintkiewicz *et al.*, 2010). Très récemment, le BPA a également été identifié comme un ligand du récepteur ERR γ , dont on ignore les fonctions physiologiques précises. Enfin, le BPA possède également la propriété de se lier aux formes membranaires des récepteurs aux estrogènes, aux androgènes ou aux hormones thyroïdiennes (Bonaccorsi *et al.*, 2008; Iordanidou *et al.*, 2010) mais également au récepteur transmembranaire GPR30 impliqué dans la prolifération cellulaire (Inserm, 2011). Dans ces conditions, les contrôles positifs choisis ne couvrent pas nécessairement toutes ces possibilités de liaison et, par conséquent, des effets qui peuvent en découler.

Dans ce contexte, le groupe de travail a préféré ne pas écarter d'emblée les études n'ayant pas utilisé de contrôle positif. Premièrement, le mécanisme d'action du BPA n'est pas clairement identifié, et de ce fait la pertinence d'un contrôle positif uniquement œstrogénomimétique (et assimilé à l'œstradiol, le DES, l'EE2 ou le benzoate d'œstradiol) est discutable. Deuxièmement, si un effet est observé avec le BPA en l'absence de contrôle positif, il peut être considéré. Par contre, si aucun effet n'est observé et qu'il n'y a pas de contrôle positif, l'étude peut être écartée. Le choix d'un contrôle positif suppose que des hypothèses fortes soient émises a priori concernant le mécanisme d'action potentiel du BPA. Par conséquent, une étude montrant une absence de réponse avec un contrôle positif a été considéré comme recevable lorsque le mécanisme d'action n'est pas connu.

3.2.2.4 Expositions non contrôlées

Le rapport de l'Afssa résume les conséquences des co-expositions « accidentelles » lors des études expérimentales qui peuvent entraîner des biais (Afssa, 2010a). En effet, les cages, la litière, l'alimentation et l'eau peuvent être à l'origine d'une exposition non maîtrisée au BPA ou à d'autres perturbateurs endocriniens et ainsi moduler l'activité œstrogénique. De plus, les études utilisent une exposition au BPA à des doses de plus en plus faibles et, donc, de plus en plus proches du bruit de fond.

L'étude de Howdeshell *et al.* a démontré le potentiel de transfert du BPA à partir de la paroi de cages en polycarbonate et en polysulfone (Howdeshell *et al.*, 2003). Les auteurs concluent que les animaux sont soumis à une exposition chronique au bisphénol A, qui peut intervenir par contact ou par léchage des parois. L'activité œstrogénique a été mesurée *in vitro* par un test « E-screen », *in vivo* par un test utérotrophique et les concentrations de BPA relarguées dans la cage ont été quantifiées par GC/MS.

De même, l'Afssa mentionne la possibilité de contamination œstrogénique en fonction de la nature et de la qualité des litières, mais à ce jour, très peu d'études prennent en compte l'apport des litières dans la charge œstrogénique totale à laquelle sont soumis les animaux (Afssa, 2010a).

Enfin, l'Afssa résume plusieurs articles qui indiquent que la présence de phyto-œstrogènes dans le régime alimentaire a un impact sur la réponse œstrogénique (Afssa, 2010a). Owens *et al.* montrent que l'utilisation d'aliments contenant une teneur en phytoœstrogène inférieure à 325-375 mg/kg pc/j n'affecte pas la réponse au BPA du test utérotrophique OCDE (Owens *et al.*, 2003). En revanche, un effet utérotrophique a été mesuré pour des concentrations en phytoœstrogènes supérieures à 600 mg/kg pc/j. Dans une revue bibliographique, Jensen *et al.* nuancent ces résultats en affirmant que la sensibilité à la présence de phytoœstrogènes dépend des cibles toxicologiques (Jensen et Ritskes-Hoitinga, 2007). Si, dans beaucoup d'études, les seuils au-delà desquels les réponses sont influencées par les phytoœstrogènes se situent entre 300 et 400 mg/kg d'aliment, quelques travaux montrent que certaines cibles toxicologiques telles que le comportement ou le développement de cancers hormono-dépendants peuvent être affectées par des teneurs nettement plus faibles. La présence de phytoœstrogènes peut avoir des effets significatifs sur l'appareil reproducteur (gain de poids quotidien, distance anogénitale et ouverture vaginale) (Thigpen *et al.*, 2007), l'âge de la puberté (Thigpen *et al.*, 2003), le comportement alimentaire, la masse grasseuse, les paramètres sériques associés au métabolisme (Lephart *et al.*, 2004) et le comportement social du rat mâle adulte (Hartley *et al.*, 2003). Les effets sur la reproduction et le développement peuvent au contraire être exacerbés par une alimentation dépourvue d'estrogène chez des animaux de laboratoire soumis depuis plusieurs générations à des régimes riches en phytoœstrogènes. Ruhlen *et al.* expliquent que ces animaux de laboratoire développent un processus adaptatif qui se traduit, lors de l'arrêt d'un régime riche en phytoœstrogènes, par un syndrome d'œstrogénisation (Ruhlen *et al.*, 2008).

D'après le rapport du panel d'experts réuni à Chapel Hill, même des régimes dépourvus de soja peuvent contenir des phytoestrogènes ; il est donc recommandé d'utiliser le même lot d'aliment tout au long de l'étude (Richter *et al.*, 2007). Vom Saal et Hugues recommandent donc de développer une alimentation standard appropriée aux études impliquant des cibles toxicologiques sensibles aux substances oestrogéniques (vom Saal et Hughes, 2005).

Concernant l'eau de boisson dispensée aux animaux de laboratoire, il s'agit plus fréquemment de l'eau du robinet. Or, celle-ci peut contenir des contaminants chimiques à l'état de traces, dont certains peuvent présenter une activité de type hormonale. Cependant, l'ensemble des données de la littérature évoque pour le BPA éventuellement présent dans l'eau de boisson destinée à la consommation humaine, des concentrations de l'ordre du nanogramme par litre. Par ailleurs, il est important de vérifier si les études précisent la nature du récipient qui a servi à dispenser l'eau de boisson.

Certaines études ont évalué l'estrogénicité de la cage, la litière et la nourriture après extractions successives avec des solvants organiques et purification éventuelle sur cartouche Sep-Pak C18, selon une méthode préalablement publiée. Les extraits sont *in fine* suspendus dans le milieu de culture puis leur estrogénicité mesurée par le test E-Screen basé sur la capacité de prolifération en présence d'oestrogènes de la lignée cellulaire MCF-7 issue de tumeur mammaire (Soto *et al.*, 1992). Dans ces conditions, l'estrogénicité de l'alimentation des animaux de laboratoire a été évaluée à moins de 20 femtomoles d'équivalent estradiol par gramme.

Il faut noter que le test E-Screen qui repose sur la prolifération cellulaire n'est pas recommandé par l'ICCVAM (Interagency Coordinating Committee for the Validation of Alternative Methods) car cette prolifération peut être due à d'autres mécanismes que ceux strictement associés à la transcription des gènes de réponse aux estrogènes (ICCVAM, 2003). Outre le test E-screen, d'autres bioessais tels que ceux basés sur la capacité de réponse aux estrogènes de levures ou de lignées cellulaires génétiquement modifiées pour exprimer l'un ou l'autre des récepteurs aux estrogènes sont couramment utilisés pour mesurer l'activité estrogénique des matériaux, des matrices alimentaires ou de l'eau (Ankley *et al.*, 1998; ICCVAM, 2003; Mueller 2004; OCDE, 2009).

3.2.2.5 Voie, mode et vecteur d'administration

- **Administration orale**

Selon l'Afssa, les études en lien avec les contaminations alimentaires privilégient les expositions *per os*, soit en utilisant des sondes gastriques pour le gavage, soit en déposant directement les composés à tester dans la cavité buccale à l'aide d'une micropipette (Afssa, 2010a) (Palanza *et al.*, 2002).

Les voies d'administration orales les plus utilisées sont le gavage et la dispersion dans la nourriture ou dans l'eau de boisson. L'administration par gavage offre une précision des doses administrées supérieure à l'administration dans la nourriture et dans l'eau de boisson. En

revanche, ils induisent un stress pour l'animal et n'offrent pas la même cinétique que les 2 autres modes d'administration. En effet, la dose de BPA est administrée en une seule fois, ce qui induit un pic de concentration plasmatique de la substance. L'administration dans l'eau de boisson et dans l'alimentation donne une cinétique plus linéaire, puisque l'animal dispose de la nourriture et de l'eau à volonté tout au long de la journée, mais la précision des doses données est moindre. La nourriture est pesée avant chaque administration, et les biberons gradués pour évaluer la quantité consommée. Or, la nourriture peut se disséminer dans la cage et la distribution des aliments est collective pour tous les animaux d'une même cage, ce qui ne fournit qu'une consommation moyenne par animal.

Par ailleurs, selon l'Afssa, le véhicule utilisé pour solubiliser et administrer les substances à tester peut modifier l'absorption ou introduire des composés eux-mêmes actifs sur les cibles étudiées (Afssa, 2010a). Ainsi, les protocoles utilisant de l'huile d'olive, riche en polyphénols, ne permettent pas d'écartier un éventuel risque d'interaction entre ces polyphénols et des perturbateurs endocriniens testés à faible dose.

- **Administration sous-cutanée**

De nombreuses études utilisent la voie sous-cutanée pour administrer le BPA, souvent dilué dans du DMSO (diméthylsulfoxyde). Il peut s'agir d'injection sous-cutanée ou de système de diffusion lente tel que des pompes miniatures implantées ou de capillaire (perméable ou parcouru de pores de faible dimension).

La voie d'administration par injection sous-cutanée permet de contrôler avec davantage de précision la dose de BPA administrée par jour. La dose administrée peut être corrigée en fonction de la modification du poids corporel au cours de l'étude pour des études à long terme ou des expositions lors de la gestation. L'utilisation d'une pompe osmotique ou d'un système de diffusion facilite les études d'exposition répétées et limite le stress de l'animal soumis à des administrations répétées et invasives et permet, en outre, de reproduire un schéma d'exposition linéaire, *i.e.* sans pic d'absorption. Cependant, ce mode d'administration présente certaines limites. L'adaptation des doses en fonction de l'évolution du poids corporel lors des expositions à long terme ou pendant la gestation est incompatible avec l'utilisation de pompes à diffusion. Or, l'âge de l'animal et sa courbe de croissance sont des facteurs importants.

L'administration sous-cutanée s'affranchit de la barrière digestive, du métabolisme intestinal et/ou cutané et de l'effet de premier passage hépatique. De plus, le transfert du compartiment sous-cutané vers la circulation sanguine, peut être aussi influencé par le vecteur dans lequel la substance testée a été administrée. D'après le NTP, le DMSO seul peut entraîner une activité biologique et est connu pour faciliter la diffusion cellulaire par la formation de canaux (Zafar *et al.*, 2010). Cependant, le NTP conclut que l'impact de l'utilisation de fortes concentrations de DMSO est incertain, et que cet effet doit probablement être faible aux quantités décrites dans les études sous-cutanées. Certaines études substituent l'utilisation du DMSO par un mélange éthanol/huile

de sésame 10:90 afin de causer moins d'irritation cutanée (Adewale *et al.*, 2009; Patisaul *et al.*, 2006). Par ailleurs, lors d'exposition *via* l'implantation de mini-pompes sous-cutanées, certains auteurs utilisent du DMSO pur comme solvant. Cette pratique est fortement déconseillée par le fabricant de ces pompes qui préconise une concentration maximale de 50% de DMSO sous peine de dissoudre l'implant et d'entraîner une inflammation du tissu et des œdèmes (NTP-CERHR, 2008).

Pottenger *et al.* ont étudié, en utilisant une approche cinétique, les voies d'exposition comme la voie orale, péritonéale ou sous-cutanée (Pottenger *et al.*, 2000). Les auteurs rapportent une différence importante dans les paramètres pharmacocinétiques (biodisponibilité et métabolisme) en fonction des voies d'exposition utilisées. Ils mettent en garde contre l'idée de faire une transposition des effets observés lors d'exposition par la voie sous-cutanée notamment et recommandent de faire cette comparaison avec précaution. Tominaga *et al.* ont également étudié l'impact des voies d'exposition (orale et sous-cutanée) sur les paramètres de toxicocinétique du BPA après administration à des doses de 10 mg/kg et 100 mg/kg chez le rat, le chimpanzé et le singe *Cynomolgus* (Tominaga *et al.*, 2006). Des différences notables de cinétique ont été observées en fonction des espèces et des voies d'abord utilisées. Ainsi, d'après le NTP-CERHR en 2008, la principale différence entre l'administration par voie orale et sous-cutanée réside dans l'absence d'effet de premier passage hépatique par voie sous-cutanée (NTP-CERHR, 2008). Le BPA est connu pour subir un intense effet de premier passage hépatique. Cependant, chez le rongeur comme chez l'Homme, le métabolisme hépatique chez les nouveau-nés est limité, réduisant de ce fait l'effet de premier passage hépatique. Cette différence est d'autant plus importante que les doses sont fortes. Par conséquent, selon ce rapport, les effets obtenus par les études sous-cutanées sont pertinents seulement si l'exposition a eu lieu pendant la période néonatale ou juvénile. Les études par voie sous-cutanée dont l'exposition a eu lieu pendant l'âge adulte ont été uniquement considérées comme informatives lors de l'identification des effets biologiques dus au BPA.

Jusqu'à présent, les études utilisant les voies d'exposition sous-cutanées n'étaient pas prises en compte dans l'évaluation des risques sanitaires relevant d'une exposition par voie alimentaire en raison des différences pharmacocinétiques entre les deux voies d'administration. Il a aussi été rapporté récemment des expositions humaines au BPA par des voies autres que la voie orale, comme la voie cutanée (papiers thermiques, ...) et des études quantitatives de pénétration du BPA au travers de la peau. Par ailleurs, les études de biomonitoring indiquent des concentrations urinaires très largement supérieures à celles anticipées sur la base des données de contaminations alimentaires actuelles. Une des hypothèses avancée pour expliquer cet écart tiendrait à la sous-estimation d'une voie d'exposition telle que la voie cutanée.

Des bioéquivalences de dose pourraient être établies à partir de données toxicocinétiques robustes et ceci, afin de pouvoir utiliser les résultats des études par voie sous-cutanée dans le cadre d'une évaluation des risques sanitaires.

Le groupe de travail a recensé et étudié 17 études ayant recours à l'exposition sous-cutanée. Ces études sont récentes puisqu'elles ont été publiées entre 2002 et 2010. Huit d'entre elles l'ayant été entre 2009 et 2010. Ces études couvrent des expositions pré- ou périnatales et correspondent à des doses administrées s'échelonnant entre 0,1 et 97000 µg de BPA/kg pc. Des effets ont été observés à des doses administrées inférieures à 5000 µg de BPA/kg pc/j. Les espèces utilisées dans les études sont majoritairement des rongeurs (9 études réalisées chez le rat notamment sur les souches Holtzman, Wistar, Sprague-Dawley) et 7 chez des souris (CD-1, ICR/Jcl, BALBC). Une étude a aussi été menée chez le mouton Suffolk. Dix études concernent la reprotoxicité et le développement. Compte tenu, des types d'effets observés et des faibles doses administrées, le groupe de travail PE a souhaité examiner avec attention les travaux basés sur l'administration sous-cutanée et évaluer dans quelle mesure les résultats obtenus pouvaient être extrapolables aux autres voies, notamment l'exposition par voie orale.

- **Autres voies d'administration**

Les autres voies d'administration utilisées sont anecdotiques. Une étude utilise la voie intracérébrale (Matsuda *et al.*, 2010). Cette voie n'est pas représentative d'une voie d'exposition humaine, mais fait partie de protocoles expérimentaux visant à mettre en évidence des mécanismes d'action. Dans le cadre de l'évaluation du risque, elle ne peut pas être retenue dans la caractérisation des effets du BPA.

Enfin, certaines études utilisent la voie intra-péritonéale (Pottenger *et al.*, 2000), intraveineuse (Kurebayashi *et al.*, 2002) ou respiratoire, mais celles-ci concernent des études pharmacocinétiques visant à comparer la biodisponibilité de différentes voies. Une étude chez la brebis par voie veineuse est rapportée, visant à déterminer l'efficacité du BPA comme agent estrogénomimétique inhibant la sécrétion pulsatile de LH (Collet *et al.*, 2010).

3.2.2.6 Doses d'exposition

Les données récentes de Taylor *et al.* sur modèles animaux suggèrent qu'une dose externe de 400 µg/kg pc/j (8 fois la DJT actuelle) par voie orale serait requise pour reproduire les concentrations plasmatiques couramment décrites chez l'Homme (de l'ordre du ng/mL) (Taylor *et al.*, 2011). L'essentiel de ce rapport s'appuie sur les études dont les doses administrées sont de cet ordre de grandeur, ou plus faible et/ou inférieures au NOAEL (5 mg/kg pc/j ; voie orale).

3.3 Transposition à l'Homme

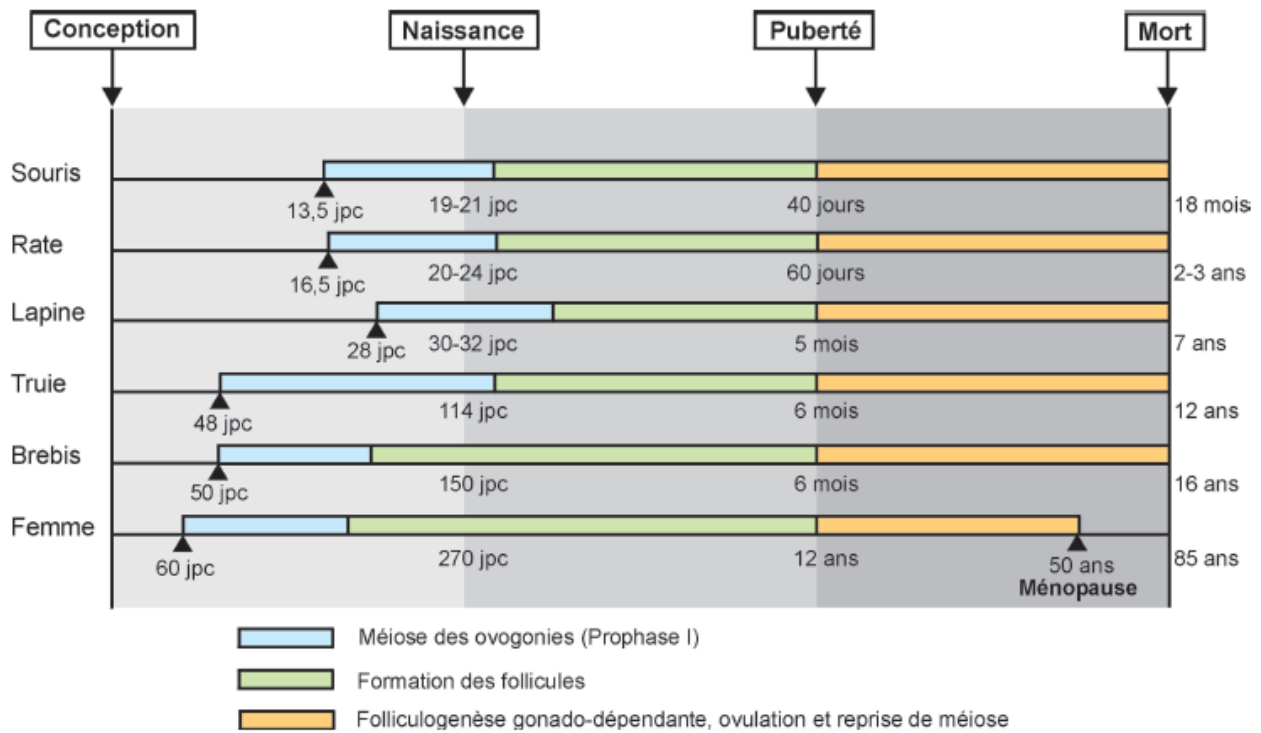
Les différences majeures entre l'Homme et l'animal en termes de cinétique rendent délicate la transposition des effets observés chez l'animal à l'Homme. Les voies de biotransformation du BPA sont également de nature et de proportions différentes selon les espèces. Les données recueillies chez l'Homme montrent que le BPA-glucuronide est le métabolite majoritaire tandis que le BPA-sulfate est plus rarement identifié et quantifié. Chez le rongeur, la conjugaison à l'acide glucuronique représente bien la voie majoritaire, mais l'aglycone n'est pas exclusivement du BPA inchangé, mais pour partie du BPA hydroxylé (Zalko *et al.*, 2003). Plusieurs autres métabolites ont aussi été identifiés, tels que le BPA di-glucuronide, ou des conjugués méthoxylés (Zalko *et al.*, 2003). De plus, les enzymes de métabolisation du BPA sont différentes entre l'animal et l'Homme. En effet, chez le rat, la glucuronidation du BPA est majoritairement prise en charge par l'isoforme 2B1 de l'UDP-glucuronosyl transférase (UGT2B1) (Yokota *et al.*, 1999). Chez l'Homme, ce sont principalement les UGT2B15 et 2B7 qui sont responsables de cette glucuroconjugaison (Hanioka *et al.*, 2008). Enfin, l'extrapolation des données de pharmacocinétique de l'animal à l'Homme sont rendues incertaines en raison des différences inter-espèces en ce qui concerne l'existence ou non d'un cycle entérohépatique dans le processus d'élimination du BPA glucuronoconjugué (Inserm, 2011).

Les rongeurs naissent dans un état relativement immature comparé aux humains et leur développement se poursuit après la naissance. Pour induire des effets développementaux similaires, l'exposition devra s'effectuer en période néonatale chez le rongeur et prénatale chez l'humain. Le rongeur nouveau-né serait plus vulnérable à cette exposition que le fœtus humain protégé en partie par la barrière placentaire. Par exemple, la différenciation de la prostate survient autour de la naissance chez les rongeurs (majoritairement après la naissance), alors qu'elle a lieu pendant la vie intra-utérine chez l'Homme. D'autres différences majeures sont notées également au niveau de la maturation du système nerveux central (SNC) et des fonctions thyroïdiennes (Howdeshell 2002).

Par ailleurs, un même effet peut être initié par des mécanismes d'action différents qui ne seront pas nécessairement perturbés par les mêmes facteurs. Par exemple, la masculinisation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope (HT-HP-G) intervient autour de la naissance chez le rongeur mâle et est partiellement médiée par l'œstradiol produit localement dans le cerveau à partir de la testostérone circulante. En revanche, chez l'Homme, cette étape de développement est initiée au 3^{ème} trimestre de la grossesse et est conduite essentiellement par les androgènes, sans implication des estrogènes.

Enfin, une extrapolation dans le temps doit être réalisée afin de remédier aux différences de longévité : les étapes les plus précoces de la spermatogénèse chez les rongeurs sont initiés peu après la naissance et s'achèvent à 6-8 semaines, alors que ces événements surviennent vers 12-15 ans chez les garçons. De la même façon, la maturation des organes formant l'axe HT-HP qui

régulent le cycle œstral, est complète à 15 jours chez les rongeurs, alors que cet événement intervient à 10-12 ans chez les filles. La Figure 1 répertorie les périodes de différenciation ovarienne chez différents mammifères et la Figure 2 représente les principales périodes du développement du tractus génital mâle chez l'humain et le rat, en relation avec le niveau de production de testostérone (Inserm, 2011).



* jpc : jours post-conception

Figure 1 : Comparaison des périodes de différenciation ovarienne chez différents mammifères (Inserm, 2011)

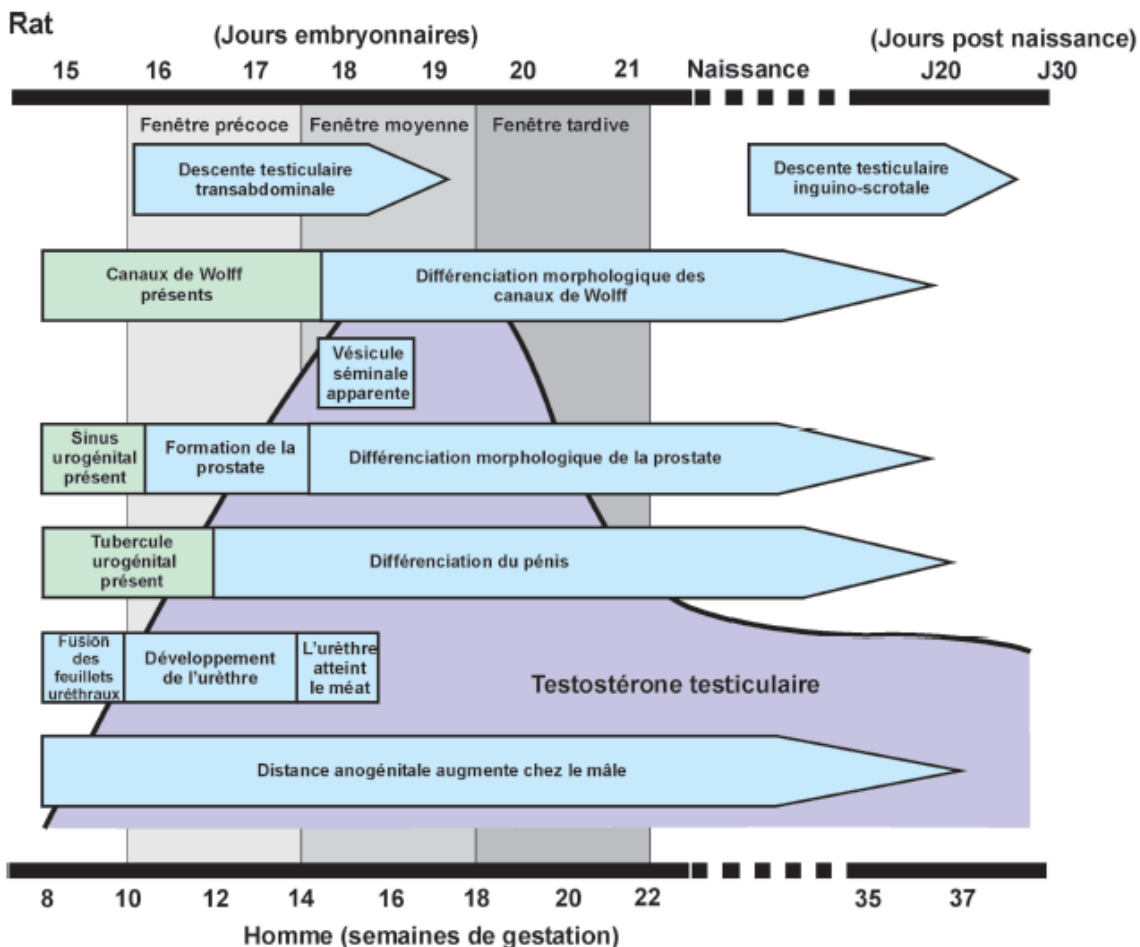


Figure 2 : Diagramme représentant les principales périodes du développement du tractus génital mâle chez l'humain et le rat, en relation avec le niveau de production de testostérone (Inserm, 2011) et d'après (Welsh *et al.*, 2008)

C'est pourquoi il est important, de considérer, lors de la transposition à l'Homme des résultats obtenus chez l'animal, dans la mesure du possible, des différences de périodes de développement qui influencent la différenciation sexuelle et de considérer également le rôle des différentes hormones intervenant dans ce processus.

4 Méthode de travail

Comme indiqué dans la lettre de saisine de la DGPR, l'expertise s'est appuyée sur les travaux antérieurs réalisés par des instances d'expertise, en particulier le rapport européen d'évaluation des risques préparé en 2008 par le Royaume-Uni, le rapport préliminaire d'expertise collective de l'Inserm consacré au BPA publié en juillet 2010 et les travaux d'expertise conduits par l'Afssa en 2010. Une audition de représentants de l'Inserm et de l'unité en charge de l'expertise de l'Afssa sur les risques alimentaires liés au BPA a été réalisée devant le groupe de travail. Par ailleurs, le rapport d'expertise de l'EFSA, publié en septembre 2010, et celui du panel d'experts réunis sous l'égide du FAO/OMS publié en novembre 2010 ont été transmis et présentés au groupe de travail.

Au-delà des rapports d'expertise publiés récemment sur le BPA, les experts ont été invités à analyser les études sources considérées comme des études clés pour certains types d'effets associés au BPA. De plus, une attention particulière a été accordée à l'ensemble des études épidémiologiques susceptibles d'apporter des informations interprétables en termes d'effets chez l'Homme et des études expérimentales conduites par voie sous-cutanée. En effet, ce dernier type d'étude n'a pas fait l'objet d'une analyse systématique dans les expertises antérieures, qui pour la plupart ont considéré uniquement les effets observés par voie orale, car jugés plus représentatifs d'une exposition alimentaire. Or, les interrogations récentes en lien avec une exposition au BPA autre qu'alimentaire, *via* la voie cutanée par exemple, et le fait que ce mode d'administration permette de mettre en évidence des effets à des doses beaucoup plus faibles que celles pouvant être administrées par voie orale, justifient une prise en compte de ces études. Des experts rapporteurs ont ainsi été nommés au sein du groupe afin d'évaluer les études épidémiologiques d'une part, et celles réalisées par voie sous-cutanée d'autre part.

Enfin, les articles nouveaux publiés depuis 2010 (date de publication du rapport préliminaire de l'Inserm) et jusqu'à janvier 2011 (date de fin de la bibliographie) ont été recensés par l'Anses et transmis aux experts. Certains articles publiés après janvier 2011 ont néanmoins été intégrés lorsqu'ils étaient susceptibles d'influencer les résultats de l'expertise. Les études évaluant les effets du BPA à des doses inférieures au NOAEL de 5 mg/kg pc/j ayant servi à dériver la DJT actuelle ont été évaluées en priorité par les experts.

Les synthèses d'avis ou d'évaluations réalisés par des organismes européens ou internationaux relatifs aux études des effets du BPA conduites à des doses supérieures au NOAEL de 5 mg/kg pc/j sont disponibles en annexe de ce rapport d'expertise (ex. effets sur le développement autres que des atteintes du système reproducteur mâle et femelle, effets chroniques, effets cancérigènes, génotoxicité).

En termes de traçabilité de l'expertise, les experts ont été nommés rapporteurs, souvent par binôme ou trinômes, sur divers types d'effets associés au BPA et correspondant globalement aux sous sections suivantes du chapitre 6 de ce document :

1. Effets sur le système reproducteur mâle,
2. Effets sur le système reproducteur femelle,
3. Effets sur le cerveau et le comportement,
4. Effets sur le métabolisme et le système cardiovasculaire,
5. Effets sur la thyroïde,
6. Effets sur le système immunitaire,
7. Effets sur l'intestin,
8. Effets sur la prostate,
9. Effets sur le sein.

Les experts rapporteurs ont ainsi été chargés de rédiger un rapport sur leur partie en s'appuyant sur les conclusions des principaux documents publiés par des instances d'expertise nationales et internationales (Afssa, 2010a; Aschberger *et al.*, 2010; CE, 2010b; Inserm, 2011; NTP-CERHR, 2008; OEHHA, 2009; Santé Canada, 2008) etc. ou par des « Panels d'experts » tels que celui réuni à Chapel Hill en 2007 (vom Saal *et al.*, 2007). Le rapport d'expertise de l'EFSA publié en septembre 2010 et les conclusions du panel d'experts réunis sous l'égide du FAO/OMS publiées en novembre 2010 ont également été considérés par le groupe de travail (EFSA, 2010; FAO/OMS, 2010). Ces conclusions ont été reprises par l'Anses en introduction des différents chapitres (encadré grisé) et n'engagent pas les experts du groupe de travail. Les experts se sont également appuyés sur les articles récents qui leur ont été régulièrement transmis par l'Anses. Ces différents rapports et articles ont été transmis à l'ensemble du groupe et discutés en séance. Pour chaque type d'effet, les données disponibles ont été présentées selon les périodes d'exposition : expositions gestationnelle ou *in utero*, prénatale, périnatale, néonatale, post-natale, pubertaire et à l'âge adulte. Le terme exposition ne préjuge pas du nombre d'administration (ex. unique ou répétée).

Pour les articles jugés importants par les experts pour renseigner les effets du BPA sur la santé, en particulier aux faibles doses pour lesquels il n'y a actuellement pas de consensus au sein de la communauté scientifique internationale, une grille de lecture et d'analyse de ces articles a été renseignée par les experts avec l'appui de l'Anses. Les items contenus dans cette grille ont été travaillés au sein du groupe de travail ; ils reprennent les points importants à renseigner pour

analyser les articles, eus égards aux facteurs limitants susceptibles de nuire à l'interprétation des résultats et discutés dans le chapitre précédent.

Pour chaque type d'effet et sur la base des conclusions des experts rapporteurs, le groupe de travail a été invité à se prononcer sur la nature des effets observés et à les caractériser en termes :

- D'effets avérés,
- D'effets suspectés,
- D'effets controversés,
- D'effets pour lesquels les données disponibles ne permettent pas de conclure.

Afin de qualifier les effets sanitaires du BPA, le groupe de travail a proposé l'arbre décisionnel suivant (Figure 3) :

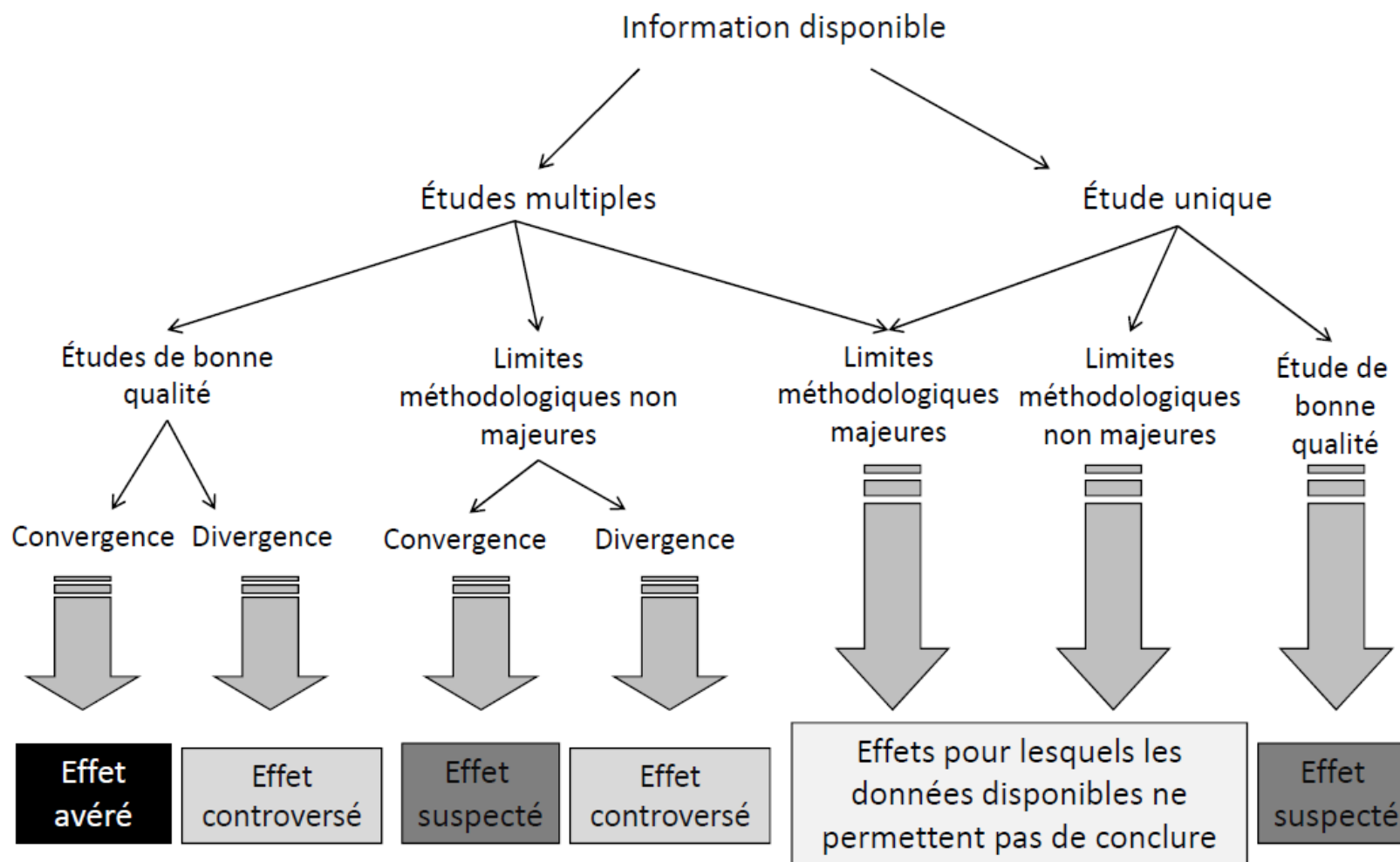


Figure 3 : Arbre de décision

Chaque information disponible concernant un effet sanitaire est évaluée grâce à l'arbre décisionnel qui s'interprète de la façon suivante :

- Lorsque l'information disponible est obtenue à partir d'une seule ou de plusieurs études, l'étude est analysée et considérée soit de « bonne qualité », soit présentant des « limites méthodologiques non majeures » ou des « limites méthodologiques majeures ».
Une étude de « bonne qualité » est définie comme comportant une méthodologie appropriée (cohérence du modèle d'exposition, prise en compte des facteurs de confusion,...) et un nombre suffisant d'observations.
Une étude présente des « limites méthodologiques non majeures » lorsque l'un des aspects ci-dessus n'est pas considéré comme pleinement satisfaisant. Néanmoins, l'apport de l'étude à l'expertise a justifié sa prise en compte. De plus, les co-expositions doivent être maîtrisées (composition de la nourriture des animaux de laboratoire, nature de leur cage, de leur récipient de boisson, ...) ou leur gestion doit au moins être mentionnée. Lorsque l'étude a présenté des insuffisances rédhibitoires, elle a été considérée comme présentant des « limites méthodologiques majeures ».
- Lorsque les résultats d'études multiples de « bonne qualité », conduites par des équipes scientifiques différentes,
 - convergent : l'effet est considéré comme « avéré »,
 - divergent : l'effet est considéré comme « controversé ».
- Lorsque plusieurs études présentant des « limites méthodologiques non majeures »
 - convergent : l'effet est considéré comme « suspecté »,
 - divergent : l'effet est considéré comme « controversé ».
- Lorsque les études présentent des « limites méthodologiques majeures » sont écartées car elles ne permettent pas de conclure.
- Enfin, lorsque l'information est apportée par une seule étude, la méthodologie est évaluée,
 - lorsqu'elle est de « bonne qualité », l'effet est « suspecté »,
 - lorsqu'elle est présente des « limites méthodologiques majeures ou non majeures », l'étude est écartée et ne permet pas de tirer de conclusion pour l'effet considéré.

Le classement des effets selon cet arbre décisionnel a été conforté par le jugement des experts du groupe de travail.

Enfin, une fois les différents types d'effets qualifiés selon leur niveau de preuve, le groupe de travail a été invité à interpréter les résultats en termes de transposition à l'Homme en vue de conduire une évaluation des risques sanitaires (ERS). La significativité des effets biologiques observés a ainsi été discutée en vue d'estimer leur pertinence pour être utilisés pour l'ERS chez l'Homme. Cela soulève un certain nombre de questions : à partir de quel niveau de variation d'un paramètre biologique chez l'Homme ou l'animal considère-t-on que l'effet devient un effet significatif ? A partir de quel niveau de variation d'un paramètre biologique chez l'Homme ou

l'animal considère-t-on que l'effet devient un effet indésirable ? Comment interpréter les travaux issus des études « omics » qui montrent des modifications d'expressions de gènes ou de protéines sans avoir le pendant sur le phénotype ? Même si certaines de ces questions sont déjà abordées dans ce document, elles seront approfondies dans le rapport final d'ERS du BPA.

A l'issue de l'analyse des dangers, les effets critiques et études clés pour les différentes voies d'exposition devront être choisis en vue de définir des VTR permettant de réaliser une évaluation quantitative des risques sanitaires.

5 Toxicocinétique

L'EFSA conclut dans un avis en 2010, sur la base de travaux de Doerge *et al.*, que le taux d'élimination du BPA est plus élevé chez l'Homme que chez le rongeur (Doerge *et al.*, 2010a, 2010b). En conséquence, pour une même exposition, la dose interne chez l'Homme (y compris chez les prématurés) sera plus faible que celle chez les rongeurs. Le facteur d'incertitude standard de 10 pour tenir compte de la variabilité inter-espèce lors de l'élaboration de la DJT est donc conservateur (EFSA, 2010).

En outre, après administration orale de la même dose chez le rat et le singe adultes (100 µg/kg pc), la proportion de BPA libre est très similaire chez les 2 espèces (< 1%). La seule différence notable est une $\frac{1}{2}$ vie d'élimination plus longue chez le rat. En revanche, chez le nouveau-né, non seulement la $\frac{1}{2}$ vie d'élimination est plus longue chez le rat mais en plus la proportion de BPA libre dans le sérum est 10 fois plus élevée que chez le singe. Ces données confirment la différence de métabolisme chez le singe et chez le rat, due à une plus grande immaturité des rats à la naissance (en relation avec l'activité UGT (ou Uridine Diphosphate Glucuronosyl Transferase)).

Quinze articles récents ont été identifiés dans le champ de la toxicocinétique, parmi lesquels 3 concernent directement l'Homme. Parmi l'ensemble de ces articles, certains confirment des données préalablement établies, en les élargissant. D'autres permettent de faire progresser les connaissances de façon significative. Ce sont ces articles qui seront examinés en priorité.

5.1 Absorption

5.1.1 Par voie orale

Après administration par voie orale, les études chez différentes espèces (rats, souris, singe) ont montré que le BPA est absorbé rapidement et largement (INRS, 2010). L'analyse des aires sous la courbe (AUC) plasmatiques montre que l'absorption gastro-intestinale est supérieure à 85% chez le rat et le singe. Les expérimentations menées chez l'Homme adulte à des doses relativement faibles (0,025 à 5 mg total) montrent que le BPA est totalement et rapidement absorbé par la voie digestive (Tsukioka *et al.*, 2004; Volkel *et al.*, 2002; Volkel *et al.*, 2005). Après une dose unique, le pic plasmatique est atteint environ 80 minutes après l'ingestion.

5.1.2 Par voie cutanée

Les calculs d'estimation de l'absorption cutanée du BPA font mention d'une valeur de 10% de la dose appliquée, ce que semble confirmer les travaux de Kaddar *et al.* à partir d'un modèle de peau de porc (Kaddar *et al.*, 2008). Cependant, des travaux récents suggèrent que ce taux pourrait être largement sous-estimé.

Dans une étude récente (Zalko *et al.*, 2011), la diffusion et la biotransformation du BPA ont été étudiées sur des cultures de peau d'oreille de porc et sur des explants de peau humaine. L'objectif de ce groupe était de développer un modèle de diffusion et d'étude du métabolisme sur peau d'oreille de porc maintenue en survie. Quatre molécules ont été utilisées pour ces études : 7-éthoxycoumarine, testostérone, benzo(a)pyrène et bisphénol A. La publication de Zalko *et al.* (2011) se rapporte aux résultats obtenus avec le bisphénol A (Zalko *et al.*, 2011). Les auteurs rapportent des résultats de pénétration et de métabolisme du BPA dans deux modèles « ex-vivo » de peau maintenue en survie : peau d'oreille de porc (dermatomée à 500 µm d'épaisseur) et peau humaine (dermatomée à 500 µm d'épaisseur). Le modèle de diffusion est de type « statique » sur cellules de 28 mm de diamètre. Le BPA radiomarké a été déposé en solution dans 60 µL d'un mélange éthanol/tampon phosphate 0,1 M pH 7,4 (1:2, v/v) à différentes concentrations correspondant à 2,75 ; 5,5 ; 11 ; 22 et 44 µg.cm⁻². Le milieu de culture a été prélevé et la radioactivité mesurée à 24, 48 et 72 h. La radioactivité dans chaque compartiment (surface, peau, milieu de culture, puits, inserts) est ensuite déterminée à 72 h. Seules les données à 72 heures sont rapportées dans l'article. Une partie significative du travail porte sur l'analyse du métabolisme du BPA (identification des métabolites dans le milieu de culture par radio-HPLC et comparaison avec des produits de référence) et la comparaison entre le modèle « peau d'oreille de porc » et « peau humaine ». Il apparaît que le BPA, dans les conditions de l'expérience et 72h d'incubation diffuse de manière significative à travers les deux modèles de peau : absorption de l'ordre de 65% pour la peau d'oreille de porc et de 46% pour les explants de peau humaine. Ce résultat n'est pas surprenant si l'on se réfère aux caractéristiques physico-chimiques de la molécule (MW = 228 et logKow = 3,2). En revanche, les éléments fournis par la publication ne permettent pas d'estimer, en condition saturante, la pénétration du BPA au travers de la peau humaine en fonction du temps. Par ailleurs, il ne s'agit pas d'une étude de pénétration telle que préconisée par la ligne directrice OCDE 428 (OCDE, 2004). De plus, le temps d'incubation de 72h est bien au delà des 24h recommandées pour préserver l'intégrité de l'explant. Les modalités d'exposition (ex. : BPA solide présent sur une surface) ne représentent pas une exposition humaine telle que supposée. Cette étude, en revanche, montre qu'aux faibles concentrations appliquées sur la peau humaine, environ 40% de la dose qui diffuse dans le liquide récepteur est sous forme de glucuronide et sulfate.

Une autre étude récente a déterminé l'absorption percutanée du BPA *in vivo* et *ex-vivo* chez le rat et *ex-vivo* chez l'Homme après une exposition de 24 heures (Marquet 2011). La perméabilité se révèle être 12 fois supérieure chez le rat que chez l'Homme. Cependant, une variabilité inter-individuelle a été retrouvée chez l'Homme. Les auteurs ont rapporté des valeurs de flux de pénétration cutanée de 120 ng.cm⁻².h⁻¹ à partir d'échantillons d'explants de peau humaine exposés

à 200 µg de BPA.cm⁻². Enfin, contrairement à l'étude de Zalko *et al.*, 2011, les auteurs retrouvent une majorité du BPA sous forme inchangée dans le fluide récepteur, ce qui peut s'expliquer par la dose nettement plus importante de BPA appliquée sur les échantillons de peau dans l'étude de Marquet et collaborateurs (Marquet 2011).

5.1.3 Par inhalation

Il n'existe pas de données sur la toxicocinétique du BPA après une exposition par voie respiratoire. Cependant, au vu de la toxicité induite (variations du poids absolu des organes mises en évidence dans une étude de toxicité répétée par inhalation chez des rats exposés 13 semaines) et d'un coefficient de partage octanol/eau favorable (3,2), il serait prudent de considérer qu'une absorption par voie respiratoire peut se produire. En l'absence de données, la biodisponibilité par voie respiratoire ne peut pas être quantifiée (CE, 2010b). Pour la partie caractérisation du risque conduite dans la rapport européen de 2008, l'absorption par voie orale et par inhalation est fixée à 100% et l'absorption par voie cutanée à 10% (CE, 2010b).

5.2 Distribution

Une fois absorbé le BPA est rapidement distribué dans l'ensemble des tissus. Il n'y a pas de véritable affinité du BPA pour un organe particulier. Cependant, chez les rongeurs, quelques heures après administration orale de BPA radiomarké, les concentrations les plus élevées sont retrouvées dans le foie et les reins.

Les données de toxicocinétiques obtenues chez le rat et l'Homme montrent un effet de premier passage important et indiquent que les résidus plasmatiques sont principalement (92-99%) sous forme de glucuronide. Plusieurs rapports indiquent une différence de toxicocinétique entre les deux espèces liée à l'existence d'un cycle entérohépatique chez le rat après hydrolyse dans l'intestin du glucuronide, ce qui a pour conséquence une élimination relativement lente comparativement à l'Homme (CE, 2010b; Ineris, 2010b; INFOSAN, 2009). Cette différence a fréquemment été mise en avant pour souligner les limites du modèle rongeur dans l'évaluation des risques du BPA pour l'Homme (Mielke et Gundert-Remy, 2009; Ginsberg et Rice, 2009). Si les études récentes combinant l'utilisation de BPA marqué au tritium ou au deutérium et des techniques de détection spécifiques et sensibles (LC-MS/MS) confirment l'existence d'un cycle entérohépatique chez les rongeurs contrairement aux primates, elles indiquent que ce cycle a des conséquences très limitées sur la clairance du BPA (Doerge *et al.*, 2010a; Doerge *et al.*, 2010b; Taylor *et al.*, 2011) et plaident en faveur de la pertinence du modèle rongeur pour l'Homme en ce qui concerne l'exposition orale au BPA. Les études réalisées chez les rongeurs indiquent que la gestation a peu d'effet sur la distribution tissulaire du BPA et de ses métabolites. Elles montrent cependant que le BPA passe la barrière placentaire et que les concentrations retrouvées dans les tissus fœtaux sont du même ordre de grandeur que celles mesurées chez la mère. L'analyse du compartiment fœtal montre qu'il s'agit de BPA libre (minoritaire) et de son conjugué glucuronide (majoritaire).

Il n'existe pas de données sur la distribution du BPA après une administration par voie cutanée et/ou sous-cutanée (CE, 2010b).

5.3 Métabolisme

Chez toutes les espèces étudiées, la voie métabolique majoritaire est la conjugaison du BPA à l'acide glucuronique pour former le BPA-glucuronide (BPA-GA) (Figure 4). Cette conjugaison a principalement lieu dans le foie et dans une moindre mesure dans l'intestin. Elle est catalysée par l'UGT2B1 chez le rat, alors que chez l'Homme ce sont les isoformes UGT2B15 et UGT2B7 qui sont responsables de cette glucuronidation (Mazur *et al.*, 2010). Le polymorphisme génétique de l'UGT2B15 pourrait entraîner des différences interindividuelles dans la capacité de détoxifier le BPA (Hanioka *et al.*, 2011; Inserm, 2011).

Dans les études de **pharmacocinétique chez l'Homme**, le profil des métabolites urinaires est constitué exclusivement ou presque de BPA-glucuronide. Les études de monitoring réalisées à partir d'échantillons d'urine collectés chez des adultes (Ye *et al.*, 2005) indiquent des proportions différentes (9,5% de BPA libre, 69,5% de BPA-glucuronide et 21% de BPA-sulfate). Kim *et al.* ont analysé la proportion de BPA et de ses métabolites récoltés chez 15 femmes et 15 hommes (Kim *et al.*, 2003). La composition urinaire moyenne observée chez les hommes est de 29,1% de BPA libre, 66,2% de BPA-glucuronide et 4,78% de BPA-sulfate, alors que chez la femme les proportions sont 33,4% de BPA libre, 33,1% de BPA-glucuronide et 33,5% de BPA sulfaté. Les auteurs concluent que les femmes ont une meilleure capacité de sulfatation que les hommes (NTP-CERHR, 2008).

D'autres métabolites ont également pu être identifiés à partir de prélèvements urinaires ou biliaires **chez les rongeurs** ou encore au cours d'incubations avec des hépatocytes en culture primaire. Il s'agit notamment de BPA-sulfate et de BPA hydroxylé (Figure 4). Au total, ces métabolites ne dépassent que très rarement 5 à 10% des métabolites totaux dans l'urine chez les rongeurs. D'autres métabolites mineurs tels que des doubles conjugués ou des dérivés méthoxylés ont également été identifiés chez les rongeurs.

Plusieurs autres métabolites, formés par oxydation, ont pu être identifiés *in vitro* à partir de fractions subcellulaires (4-méthyl-2,4-bis(p-hydroxyphényl)pent-1-ène, isopropyl-hydroxyphénol, glutathionyl-phénol, glutathionyl 4-isopropylphénol, et bisphénol A dimères) ; cependant, à ce jour, ils n'ont pas été décrits *in vivo* (INRS, 2010).

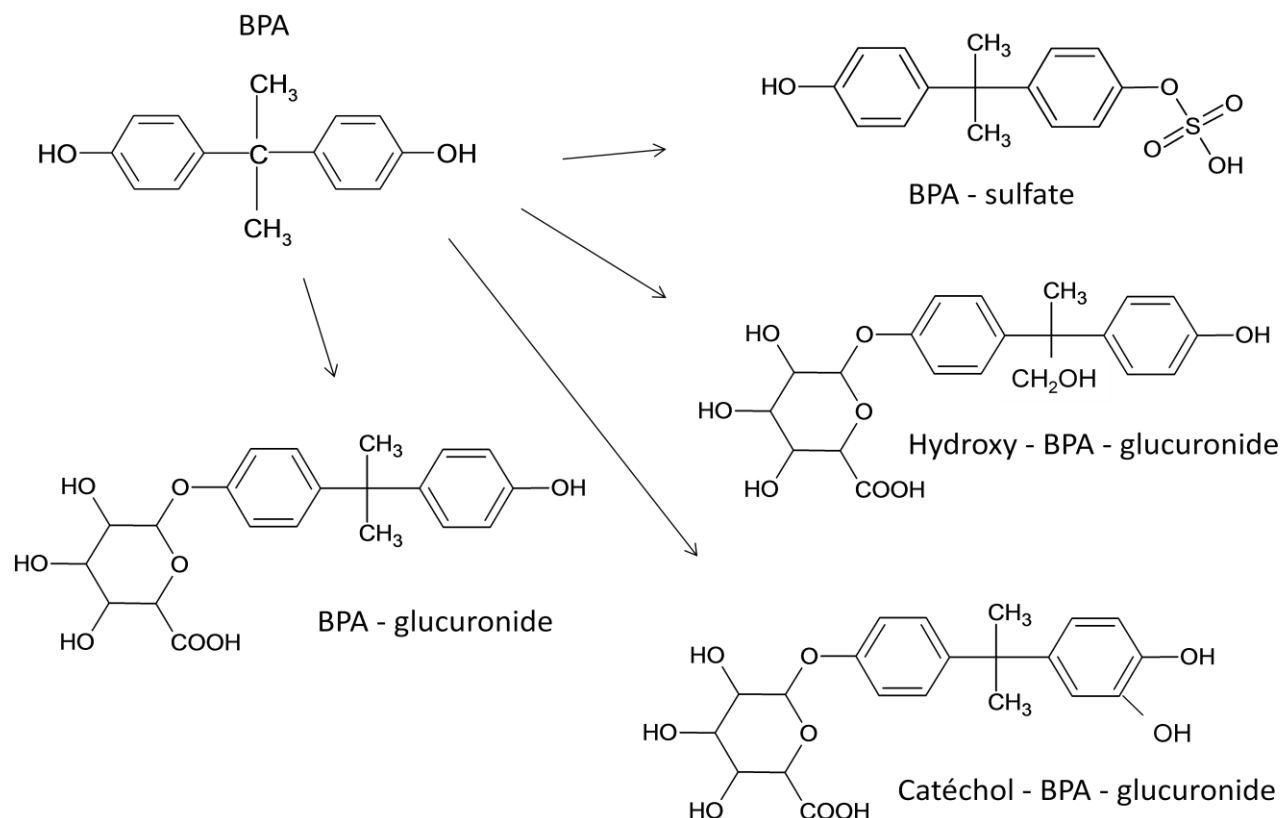


Figure 4 : Voies métaboliques majeures du BPA chez les mammifères (Inserm, 2011)

Les formes BPA-glucuronide et BPA-sulfate représentent des voies de détoxification du BPA dans la mesure où elles ne sont pas actives sur les récepteurs aux œstrogènes. Ginsberg *et al.* ont suggéré que la déconjugaison au niveau de sites tissulaires spécifiques par les enzymes β -glucuronidase et arylsulfatase C pouvait transformer des métabolites conjugués et sulfatés en BPA « libre » actif sur les récepteurs œstrogéniques (Ginsberg et Rice, 2009). La β -glucuronidase est présente dans les intestins mais aussi au niveau du placenta et du foie fœtal, ce qui pourrait entraîner une exposition du fœtus à du BPA « libre » (Aschberger *et al.*, 2010).

La voie d'administration a une incidence sur les formes et les niveaux circulants de BPA, proportion de BPA libre par rapport aux conjugués (Doerge *et al.*, 2010b; Pottenger *et al.*, 2000; Taylor *et al.*, 2008). Les données recueillies chez les rongeurs concernent les voies orale, sous-cutanée et intra-péritonéale et font apparaître des proportions de BPA libre / total nettement plus importantes dans le cas des administrations sous-cutanée et intra-péritonéale. Les différences sont beaucoup moins importantes pour le compartiment urinaire.

5.4 Élimination

Il existe des différences importantes entre l'Homme et les rongeurs dans le processus d'élimination du BPA et du glucuronide correspondant (Aschberger *et al.*, 2010).

Chez l'Homme, le BPA est majoritairement métabolisé en BPA-glucuronide au niveau hépatique puis est éliminé sous cette forme par voie urinaire. Le pic circulant de concentration en BPA « libre » est considéré comme très faible après une exposition par voie orale compte tenu de l'effet de premier passage et de la vitesse élevée de métabolisation. Le temps de demi-vie plasmatique du BPA total est d'environ 4-6 h. Plusieurs études ont montré une excrétion limitée du BPA dans le lait maternel (Vandenberg *et al.*, 2007a).

Chez le singe *cynomolgus*, exposés par voie orale à de faibles doses de BPA (<100 µg/kg pc), la majeure partie de la dose administrée (85 à 100%) est excrétée dans l'urine, comme chez l'Homme. La demi-vie d'élimination plasmatique du BPA total chez le singe rhésus est comprise entre 3,5 et 9 h, c'est-à-dire comparable à celle de l'Homme (Doerge *et al.*, 2010a; Taylor *et al.*, 2011).

Chez les rongeurs, après glucuronidation du BPA dans le foie, le BPA-glucuronide est excrété dans la bile puis hydrolysé par une glucuronidase et réabsorbé au niveau de l'intestin sous forme de BPA « libre ». Ainsi, une grande proportion de la dose administrée (45%-66%) est rapidement excrétée dans la bile sous forme de BPA-glucuronide, avec un taux d'excrétion biliaire ayant tendance à être plus élevé chez les mâles que chez les femelles. Ce cycle entérohépatique conduit à une élimination plus lente chez les rongeurs que chez l'Homme.

L'excrétion du BPA et de ses métabolites dans l'urine compte pour 10-40% de la dose administrée et la principale voie d'excrétion chez le rat s'effectue *via* les fèces (50-83% de la dose administrée), en partie sous forme de BPA libre. Sept jours après administration de BPA par voie orale, environ 80% et 70% de la dose sont éliminés *via* les fèces chez les mâles et les femelles, respectivement. La majeure partie de la dose est excrétée 72 heures après administration.

Dans l'urine, le BPA est principalement éliminé sous forme de BPA-glucuronide (82% du marquage radioactif retrouvé dans l'urine), puis sous forme de BPA « libre » (14%) et de BPA sulfate (4%) (Aschberger *et al.*, 2010; CE, 2010b).

La plupart du BPA excrété dans les fèces se retrouve sous forme de BPA « libre » qui provient probablement en majorité de l'hydrolyse dans le tractus gastro-intestinal du BPA-glucuronide excrété dans la bile plutôt que du BPA non absorbé.

Dans une étude récente, le passage dans le lait du BPA a été déterminé à partir d'expérimentations menées chez le rat exposé par voie orale (Doerge *et al.*, 2010b). Des rates

allaitantes (n=5) sont gavées quotidiennement pendant une semaine avec du BPA deutéré (100 µg/kg pc) à partir du jour de naissance des nouveaux nés. Un groupe témoin (n=3) est traité par le véhicule uniquement (éthanol/eau, 1:9 v/v). Les prélèvements de lait sont réalisés après injection d'ocytocine et ont lieu une heure exactement après l'administration de BPA. Les analyses de lait et de sérum ont été réalisées en LC/MS-MS. Elles ont été faites à PND7 pour le lait et à PND10 pour le sérum (pour les mères et leurs petits). Les analyses de sérum confirment le faible pourcentage d'aglycone (0,5%). Les dosages réalisés sur le lait indiquent des concentrations moyennes de BPA libre et BPA total correspondant respectivement à 0,87 et 7,6 nM, soit un rapport lait/sérum de 1,3 pour le BPA libre et de 0,062 pour le BPA total.

Cet article montre clairement que l'exposition des nouveaux nés au BPA libre, suite à une exposition de la mère, est très faible. Les concentrations sériques en BPA total sont 300 fois plus faibles chez les petits que chez les mères; le BPA libre étant indétectable chez les petits. Les résultats obtenus, comparés à des données préalables obtenus par les mêmes auteurs chez des rats à PND10 indiquent que les concentrations sériques sont ici 500 fois plus faibles que celles obtenues lors d'une administration par gavage d'une dose de 100 µg/kg pc, c'est-à-dire celle administrée dans cette étude aux mères.

5.5 Toxicocinétique du BPA pendant la gestation et chez le fœtus.

La toxicocinétique et le métabolisme du BPA semblent être différents chez les femelles gravides, les fœtus et les nouveau-nés par comparaison aux adultes non gravides (Santé Canada, 2008).

Chez la femme enceinte, plusieurs études ont mesuré des niveaux de concentrations de BPA (libre + conjugué) dans le sérum, dans le sang de cordon ombilical et dans le plasma des fœtus (Vandenberg *et al.*, 2007a). Les résultats de ces études montrent que le BPA traverse la barrière placentaire. Dans une étude (Ikezuki *et al.*, 2002), les concentrations relevées dans le sérum maternel variaient de 1,4 à 2,4 ng/mL alors que les concentrations relevées dans le liquide amniotique (15-18 semaines de gestation) étaient plus élevées (environ 8,3 ng/mL).

Chez des rates gravides F344, après administration par voie orale d'une dose unique de BPA de 1 g/kg de nourriture, l'absorption et la distribution du BPA ont été rapides dans les organes. Après 20 minutes, la substance avait atteint le fœtus *via* le placenta et après 40 minutes, la concentration fœtale dépassait la concentration sanguine de la mère (Santé Canada, 2008).

Dans une étude récente, l'exposition du fœtus au BPA libre a été investiguée en étudiant non seulement le franchissement de la barrière placentaire, mais également la possibilité de libération *in situ* de BPA libre à partir de la déconjugaison du BPA-glucuronide (Nishikawa *et al.*, 2010). Cette étude a été réalisée chez la rate en gestation dont on a perfusé l'utérus avec du BPA-glucuronide à la concentration de 10 µM. Les teneurs en BPA et BPA-GA sont déterminées à partir

d'analyses en LC/TOF-MS. Aucune contamination du BPA-GA par du BPA n'a été observée. Cette étude vise à évaluer le passage du BPA vers le fœtus et le liquide amniotique.

Les résultats montrent que du BPA-GA est retrouvé dans le fœtus (110 pmol) mais aussi dans une moindre mesure du BPA libre, ratio 95/5, montrant pour la première fois que le fœtus est capable de déconjuguer le BPA-GA. Les analyses du liquide amniotique indiquent la présence de BPA (31,4 pmol) alors qu'aucune trace de BPA-GA n'a été détectée (LOQ = 20 pmol/mL). Ce résultat s'explique par le fait que l'action des bêta-glucuronidases, enzyme de déconjugaison, s'exprime chez le jeune avant les enzymes de conjugaison (UDPGT); ce déplacement d'équilibre est en faveur de la déconjugaison du BPA. Les UDPGT apparaissent tardivement voir après la naissance chez le primate. Les mesures d'UGTB1 confirment qu'elles sont très faiblement exprimées dans le fœtus. Les auteurs ont également mis en évidence dans le placenta un niveau élevé d'expression des transporteurs Oatp4a1 et Mrp1 qui pourraient être impliqués dans la prise en charge du BPA-GA dans le placenta. Cette publication montre que le fœtus peut-être exposé à du BPA-libre en dépit du fait que les niveaux circulants chez la mère sont principalement sous forme de conjugué glucuronide. Une contamination des échantillons par du BPA libre est peu probable dans la mesure où de nombreux échantillons s'avèrent négatifs pour ce qui concerne la présence de BPA.

5.6 Toxicocinétique du BPA chez les nouveau-nés

Chez les nouveau-nés humains, plusieurs voies métaboliques, comme par exemple la glucuronidation (2 à 5 fois plus faible chez les nouveau-nés prématurés), et plusieurs fonctions excrétrices, comme par exemple la filtration glomérulaire (1,7 fois plus faible), ont une efficacité plus faible comparée à celle des adultes ; ces fonctions atteignent leur pleine capacité 1 mois et 7 mois après la naissance, respectivement (EFSA, 2008). En 2008, l'EFSA a été sollicité pour réexaminer la toxicocinétique du BPA en fonction de l'âge et son implication dans l'évaluation des risques et donc dans la construction de la DJT. L'EFSA a conclu que cette immaturité dans la capacité de glucuronidation chez les nouveau-nés pouvait être compensée par la présence de sulfo-transférases, ce qui résulterait en une détoxification du BPA efficace (Aschberger *et al.*, 2010; EFSA, 2008). En effet, contrairement aux UGT, les sulfotransférases (SULT), pour lesquelles les substrats des UGT ont une forte affinité, sont actives chez les fœtus en développement et sont fonctionnelles à la naissance. Ces enzymes catalysent efficacement la formation de BPA-sulfate *in vitro* chez l'Homme. Finalement, l'EFSA a conclu que la capacité de biotransformation du BPA en métabolites inactifs était suffisante chez les nouveau-nés humains.

Des études **chez le rat** ont montré que chez les nouveau-nés, la voie de glucuronidation était davantage saturable que chez les adultes, ce qui pourrait induire une plus grande concentration en BPA « libre » dans les tissus cibles. La capacité de glucuroconjugaison à travers l'activité des UGT

est également faible après la naissance et demeure réduite après le sevrage (Aschberger *et al.*, 2010).

Les études de Doerge *et al.* chez les nouveaux nés de rat et de singe rhésus confirment que les paramètres toxicocinétiques sont pour la plupart d'entre eux significativement différents de ceux déterminés chez l'adulte, en particulier pour ce qui concerne le BPA total (Doerge *et al.*, 2010a; Doerge *et al.*, 2010b). Néanmoins, s'agissant des concentrations sériques maximales (C_{max}) en BPA libre, si elles sont significativement plus élevées chez le rat nouveau né (à PND3 ou PND10) que chez l'adulte, il ne semble pas en être de même chez le singe.

Ces mêmes auteurs ont également montré chez le rat adulte et nouveau-né que l'administration sous-cutanée de BPA modifiait considérablement les paramètres toxicocinétiques, mais également le ratio BPA-libre/BPA-conjugué dans le sérum chez le rat nouveau-né (Doerge *et al.*, 2010b).

En **conclusion**, des différences toxicocinétiques existent entre les rongeurs et l'Homme pour le BPA mais celles-ci sont mineures et ne remettent pas en question l'intérêt du modèle rat ou souris pour appréhender les effets toxiques de ce composé. En particulier, l'influence du cycle entérohépatique présent chez les rongeurs, mais pas chez le singe ou l'Homme, est limitée. La principale voie de détoxification du BPA est la conjugaison à l'acide glucuronique. Les formes conjuguées ne sont pas actives sur les récepteurs aux œstrogènes mais des déconjugaisons libérant du BPA sont susceptibles de se produire au niveau de certains tissus. Elles ont été démontrées chez le fœtus de rat.

Il existe encore plusieurs incertitudes concernant la toxicocinétique du BPA. Les femmes enceintes, les fœtus et les nouveau-nés peuvent être considérés comme des sous-populations sensibles. Les modèles pharmacocinétiques actuels ne permettent pas de caractériser complètement l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion du BPA chez ces sous-populations. Ils font également apparaître une incohérence entre les valeurs d'exposition calculées sur la base de la contamination des aliments et les valeurs mesurées dans le sang ou les urines de la population générale.

6 Effets sur la santé

6.1 Apport des études épidémiologiques

Les études épidémiologiques ont été évaluées par des organismes tels que l'EFSA, le NTP-CERHR, l'OEHHA, le FAO/OMS, l'Afssa, l'Inserm,... D'après l'Inserm (2011) « En conclusion, dans l'ensemble, les études épidémiologiques sont trop peu nombreuses pour déterminer la plausibilité chez l'Homme des effets observés dans l'expérimentation animale. À l'heure actuelle, les études réalisées chez la femme concernant le risque de cancer du sein ou d'endométriose reposent toutes sur une approche rétrospective (particulièrement limitée pour un composé non persistant comme le bisphénol A) et des populations cliniques de convenance, sans plan d'échantillonnage précis. Du côté masculin, une étude en Chine suggère une association entre exposition professionnelle au BPA et troubles de la fonction sexuelle ; de plus, deux études, à partir de cette même population, et d'une population d'hommes consultant auprès d'une clinique d'infertilité du Massachusetts, ont rapporté une diminution de la concentration spermatique en association avec l'exposition au BPA à l'âge adulte, à des doses correspondant aux niveaux rencontrés en population générale. La cohérence de ces deux études et leur caractère transversal impliquent de considérer sérieusement l'hypothèse d'un effet du BPA à l'âge adulte sur la concentration spermatique. La confirmation ou l'infirmité de la plausibilité de retrouver chez l'Homme certains des effets mis en évidence dans l'expérimentation animale à la suite d'expositions durant la phase du développement impliquerait la réalisation d'études avec un suivi régulier des expositions chez la femme enceinte puis un suivi sanitaire de sa descendance, longues et lourdes méthodologiquement, auprès de populations de taille importante » (Inserm, 2011).

Au cours des dix dernières années, des études épidémiologiques ont été réalisées incluant une analyse des effets possibles dus au BPA. Ces études visent à explorer l'impact sur la fonction de reproduction chez l'homme et la femme, les risques de fausse couche ou de prématurité, d'endométriose, d'obésité, les effets sur le comportement de l'enfant, l'âge de survenue de la puberté, le développement mammaire ou bien l'association avec le cancer du sein.

Les résultats de ces études ont été discutés dans les différents chapitres de ce rapport d'expertise avec un focus particulier sur les études ayant été conduites récemment.

Un tableau récapitulatif des études épidémiologiques analysées dans le cadre de ce rapport est disponible en annexe (Annexe 7). Ce tableau inclut une mention relative à la qualité de ces études ainsi que le (ou les chapitres) concerné(s).

6.1.1 Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures

L'étude transversale d'Itoh *et al.* ne retrouve pas d'association entre le BPA urinaire et l'**endométri**ose, sur 140 patientes japonaises issues d'une clinique d'infertilité (Itoh *et al.*, 2007). Les femmes qui ont eu une grossesse avec accouchement ont été exclues. Pour des raisons inconnues, les auteurs ont recruté 9 femmes sans problèmes d'infertilité « pour augmenter la puissance statistique ». Le BPA a été analysé dans l'urine, prélevée juste avant la laparoscopie. Le diagnostic a été fait selon les critères laparoscopiques de l'American Fertility Society Association, du stade 0 au IV. Le niveau médian du groupe 0-I était de 0,80 µg/g de créatinine versus 0,93 µg/g de créatinine chez le groupe II-IV.

L'étude de Wolff *et al.* (**paramètres de croissance à la naissance**, 367 sujets) ne démontre aucune corrélation avec le BPA analysé une fois durant le troisième trimestre de grossesse (Wolff *et al.*, 2008b). Les auteurs ont analysé 5 phénols dont le BPA et 10 métabolites des phtalates. Sur une population de 479 femmes recrutées, 75 (16%) ont été exclues de l'analyse, surtout à cause des complications de grossesse ou des pertues de vue (n=19). Les concentrations de BPA variaient de la limite de détection à 35,2 µg/L (médiane 1,3 µg/L).

L'étude de Wolff *et al.* (**puberté chez les filles, développement des seins**, 192 sujets) ne démontre aucune relation entre le BPA et le stade de la puberté (Wolff *et al.*, 2008a). En plus du BPA, les phytoestrogènes, le plomb, le DDE et les PCB ont été analysés. Ce résultat a été confirmé sur une cohorte de 1151 filles (Wolff *et al.*, 2010). La dernière étude inclut les analyses des phytoestrogènes, des phtalates, du triclosan et des phénols autres que le BPA. Dans les deux cas, les auteurs ne donnent pas l'étendue des concentrations à travers la population, mais ils les présentent par groupes d'étude. Les moyennes géométriques varient de 1,6 à 2,4 µg/L.

Deux études (Lang 2008, Melzer 2010) analysant les **maladies cardiovasculaires, le diabète et les paramètres biochimiques sanguins** chez l'adulte méritent une attention particulière car il s'agit d'une population NHANES représentative de la population générale américaine (Lang *et al.*, 2008) (Melzer *et al.*, 2010). Sur un échantillon de 1455 personnes en 2003-2004, une association positive est observée entre le BPA urinaire, certaines enzymes hépatiques, le risque de diabète et de maladies cardiovasculaires. En 2005-2006, les niveaux de BPA étaient significativement plus bas. Seule une association avec le risque de maladies cardiovasculaires a été observée. Aucune étude animale n'a été faite pour appuyer ces observations. Les auteurs émettent des réserves sur la causalité dans ces associations et affirment que d'autres études sont nécessaires.

Une autre étude NHANES 2003-2006 a cherché une association entre le BPA et **allergies** (n=2133) et **anti-corps anti-cytomégalovirus** (n=787). Une association positive avec les anticorps de cytomégalovirus a été observée, mais la portée et la causalité de cette relation restent incertaines. De plus, les auteurs ont travaillé uniquement sur une population ayant des niveaux

détectables de BPA urinaire, ce qui suppose que les individus avec des niveaux inférieurs à la limite de détection ont été écartés, ce qui est discutable (Clayton *et al.*, 2011).

Deux études ont examiné la relation entre le BPA et le **développement psychomoteur**. Celle de Braun *et al.* a fait l'objet de critiques assez sévères (Braun *et al.*, 2009), en particulier par l'Afssa qui ne l'a pas jugée de qualité acceptable en 2010. Il est fort probable que l'association positive retrouvée pour le comportement d'externalisation uniquement chez les filles est liée au hasard. Cependant, il est à noter que les experts du FAO/OMS considèrent comme prioritaire la reproduction de cette étude sur une large cohorte associée à plusieurs mesures urinaires, en particulier en début de grossesse (FAO/OMS, 2010). Une deuxième étude de Miodovnik *et al.*, a cherché à corréliser les taux urinaires de BPA et de phtalates analysés durant la grossesse avec la sociabilité des enfants citadins multi-ethnies âgés de 7 et 9 ans, chez 137 enfants. Aucune association significative n'a été retrouvée entre les taux urinaires et des troubles sociaux pour le BPA. Le BPA était corrélé positivement avec la sévérité des troubles sociaux (« Social Responsiveness Scale »), mais cette relation était non statistiquement significative (Miodovnik *et al.*, 2011).

L'étude de Hong *et al.* (**marqueurs de stress oxydatif et de résistance à l'insuline, 960 sujets**) ne démontre aucune corrélation avec des marqueurs de stress oxydatif (Hong *et al.*, 2009). Cependant, les sujets ayant à jeun un taux d'insuline élevé ont plus de BPA urinaire. L'indice HOMA (Homeostatic Model Assessment) n'était pas lié au BPA. Le BPA a été analysé dans 516 échantillons. Chez 24% de sujets, le BPA n'était pas détectable, la médiane était de 0,63 ng/mL.

Trois études de qualité acceptable abordent la question des **hormones sexuelles masculines** (Tableau III).

Tableau III : Études épidémiologiques humaines de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures et relatives à l'étude des hormones sexuelles masculines

Effectif	Population	Résultats	BPA urinaire
(Galloway <i>et al.</i> , 2010) 715	Générale	hommes : ↗ testostérone totale (n=316)	1,3 – 11,5 ng/mL (24h)
(Meeker <i>et al.</i> , 2010a) 167	Couples inféconds	↗ FSH, FSH/inhibine B et oestradiol/testostérone, ↘ inhibine B	< 0,4– 36,4 ng/mL
(Mendiola <i>et al.</i> , 2010) 375	hommes fertiles	↘ index de testostérone libre (Testostéone totale/SHBG) ↗ SHBG	< 0,4– 6,5 ng/mL

Dans les études de Meeker *et al.* et de Mendiola *et al.*, deux populations ont été étudiées : des hommes de couples inféconds et des hommes fertiles (Meeker *et al.*, 2010a; Mendiola *et al.*, 2010). Dans ces deux populations, les concentrations de différentes hormones et protéines (FSH, LH, testostérone, œstradiol, inhibine B,...) et les concentrations de BPA urinaire ont été mesurées. Des modifications hormonales et protéiques ont été observées dans les 2 études, comme le montre le tableau ci-dessus. A noter que les modifications observées n'étaient pas les mêmes en fonction des 2 études. Les concentrations des hormones thyroïdiennes et de la TSH ont aussi été mesurées dans le travail de Meeker *et al.* mais aucune relation n'a été observée avec les concentrations de BPA urinaires (Meeker *et al.*, 2010a).

L'étude de Galloway *et al.* n'est pas contradictoire avec ces études, mais le choix des hormones investiguées a été limité aux hormones gonadiques: testostérone libre et totale, œstradiol ainsi qu'à la SHBG (Sex Hormone–Binding Globuline) (Galloway *et al.*, 2010).

Quatre études abordent la question de la **qualité des gamètes**, dont trois – chez les hommes (Tableau IV).

Tableau IV : Etudes épidémiologiques humaines de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures et relatives à l'étude de la qualité des gamètes mâles

	Effectif	Population	Résultats	BPA urinaire
(Li <i>et al.</i> , 2011)	218	Travailleurs	↘ concentration, mobilité, vitalité des spermatozoïdes	Médiane = 39 (6-354) µg/g créatinine
(Meeker <i>et al.</i> , 2010b)*	190	Inféconds	↘ concentration spermatique et pourcentage de formes typiques ; ↗ fragmentation de l'ADN du noyau du spermatozoïde	ND – 36,4 ng/mL
(Mendiola <i>et al.</i> , 2010)	375	hommes fertiles	Pas de relation	ND – 6,5 ng/mL

* sur 114 sujets ayant un paramètre en dessous de la norme de l'OMS 99 (soit une numération spermatique de 40×10^6 , une concentration spermatique de 20×10^6 /mL et une mobilité de 50%), l'augmentation en BPA d'un interquartile est associée à une diminution de 27% en concentration et de 16% en morphologie

L'étude de Mendiola *et al.* n'a pas permis de mettre en évidence de corrélation entre concentrations urinaires de BPA et caractéristiques spermatiques pour des niveaux de concentration urinaire inférieure à 6,5 ng/mL (Mendiola *et al.*, 2010).

En revanche, Meeker *et al.* ont montré une relation entre une altération des caractéristiques du sperme, une augmentation de la fragmentation de l'ADN nucléaire du spermatozoïde, et la concentration urinaire en BPA, dans une population d'hommes inféconds présentant une concentration urinaire de BPA n'excédant pas 36,4 ng/mL (Meeker *et al.*, 2010b). Il est important de noter que certains paramètres de l'analyse du sperme n'ont pas été réalisés en respectant les recommandations de l'OMS (OMS, 1999).

Li *et al.* ont mis en évidence un lien entre les paramètres spermatiques et les concentrations urinaires en BPA, dans une population de travailleurs exposés au BPA (Li *et al.*, 2011). Dans cette étude, sur 888 hommes approchés, seuls 58% y ont participé sans connaître leurs motivations (problème de fécondité, âge,...) ce qui peut constituer un biais de sélection. Les mesures relatives à la qualité du sperme ont été réalisées sur 218 sujets.

L'étude de Mok-Lin *et al.* réalisée sur des femmes prises en charge en fécondation *in vitro* (FIV), démontre une association négative entre le BPA, l'œstradiol, le nombre et le stade de maturation des ovocytes (Mok-Lin *et al.*, 2010). Les concentrations de BPA urinaire se situaient entre <0,4 et 25,5 µg/L. La moyenne géométrique était de 2,5 µg/L. L'étude a été faite sur 112 cycles (total de 84 femmes), 203 échantillons urinaires (2 échantillons pendant 91 cycles et un échantillon pendant 21 cycles).

L'étude de Fujimoto *et al.* a examiné la relation entre le BPA sérique et la maturité des ovocytes et le taux de fécondation chez 58 femmes prises en charge en FIV (Fujimoto *et al.*, 2011). Le BPA urinaire a été analysé chez les femmes et chez 26 hommes-partenaires. La concentration médiane de BPA était de 2,53 ng/mL avec des concentrations maximales à 67,4 ng/mL chez les femmes et de 0,34 ng/mL chez les hommes avec des concentrations maximales de 22,7 ng/mL). Sur 59 cycles, 13 ovocytes ont été prélevés par cycle, en moyenne. Les auteurs rapportent une association significative entre la concentration sérique en BPA des femmes et la diminution du taux de fécondation. Cependant, les patients ayant eu recours aux deux procédures de fécondation *in vitro* (sans et avec microinjection de spermatozoïdes) ont été considérés comme un seul groupe. Or, la qualité des gamètes mâles est différente dans ces deux groupes.

L'analyse de l'ensemble de ces études :

- ne permet pas de conclure sur les modifications des profils hormonal et protéique, et sur la qualité des spermatozoïdes,
- laisse suspecter un retentissement sur la qualité des gamètes chez la femme inféconde suivie en assistance médicale à la procréation (AMP).

Deux études de qualité acceptable abordent la question des **troubles de la fonction sexuelle**. L'étude transversale de Li *et al.* a permis de recruter des travailleurs masculins exposés au bisphénol A et d'estimer par questionnaire la fréquence de certains troubles de la fonction sexuelle, déclarés lors d'un entretien (Li *et al.*, 2011). Les auteurs ont conclu qu'il existait une association dose-réponse entre le niveau élevé d'une exposition cumulée au BPA et un risque plus élevé de troubles de la fonction sexuelle. Dans un deuxième article de Li *et al.*, qui complète la première étude, un dosage de BPA dans les urines a été réalisé chez 427 travailleurs exposés au BPA (Li *et al.*, 2010b). Les résultats montrent une association entre une exposition au BPA et l'existence de dysfonctions sexuelles (un taux élevé de BPA dans les urines était significativement corrélé avec une augmentation des troubles de la fonction sexuelle). Cependant, ces études ont fait appel à l'utilisation de questionnaire lors d'entretiens individuels, ceux-ci ne se faisant probablement pas à l'aveugle du statut du travailleur vis-à-vis de l'exposition. De plus, d'autres questions demeurent sur le choix des valeurs seuils des événements de la vie sexuelle.

Les études épidémiologiques disponibles à l'heure actuelle n'ont pas permis de mettre en évidence d'association entre les concentrations urinaires en BPA mesurées en postnatal et le développement de la puberté chez les filles.

De plus, comme indiqué en introduction de ce chapitre, l'ensemble de ces études seront discutées dans les différents chapitres de ce rapport d'expertise.

6.1.2 Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures

Lors de l'analyse de la qualité des études épidémiologiques, il est apparu que certaines de ces études présentaient des limites méthodologiques majeures telles qu'un faible effectif de la population investiguée, la non prise en compte de facteurs de confusion pertinents, le dosage du BPA selon une technique inadaptée, le mode de conservation des échantillons non adapté,... Les études ci-dessous n'ont par conséquent pas pu être prises en compte lors de l'évaluation des effets sanitaires du BPA :

- (Cantonwine *et al.*, 2010),
- (Cha *et al.*, 2008),
- (Cobellis *et al.*, 2009),
- (Hanaoka *et al.*, 2002),
- (Hiroi *et al.*, 2004),
- (Kandaraki *et al.*, 2011),
- (Meeker *et al.*, 2010a) : investigation des effets sur les hormones thyroïdiennes,
- (Padmanabhan *et al.*, 2008),
- (Sugiura-Ogasawara *et al.*, 2005),
- (Takeuchi *et al.*, 2004),
- (Yang *et al.*, 2009).

De plus, comme indiqué en introduction de ce chapitre, l'ensemble des études épidémiologiques analysées est reporté dans un tableau récapitulatif (Annexe 7).

6.2 Effets sur le système reproducteur mâle

Chez l'homme, 3 études ont examiné le lien entre BPA urinaire et qualité du sperme (Mendiola *et al.*, 2010; Meeker *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2011). Les conclusions du panel d'experts réunis sous l'égide de la FAO/OMS indiquent que ces trois études épidémiologiques rapportent des associations entre les concentrations urinaires en BPA les plus élevées et un ou plusieurs paramètres d'altération de la qualité du sperme (FAO/OMS, 2010). Cependant, pour deux de ces études, l'association n'était pas statistiquement significative et pour une des trois études les co-expositions professionnelles ont été partiellement étudiées (Li *et al.*, 2011). Etant donné les faiblesses de ces études, ce panel a recommandé de nouvelles études afin d'investiguer les effets du BPA sur la qualité du sperme incluant plusieurs prélèvements de sperme et d'urine chez les hommes participant à ces études épidémiologiques.

Chez l'animal, près de 100 études *in vitro et in vivo*, la plupart sur le rat ou la souris, ont étudié les effets du BPA sur le système reproducteur mâle. Leurs résultats sont contradictoires. Ces études se différencient par de nombreux paramètres tels que la souche, l'âge ou le stade de développement des animaux, la voie d'exposition, les effets investigués et leur mode d'investigation (nature des examens cliniques, histologiques, ...), le nombre d'animaux par groupe, etc. Les effets testiculaires et prostatiques rapportés dans certaines études à des doses faibles ou intermédiaires de BPA administrées à différents stades du développement ne sont pas observés de manière constante (OEHHA, 2009). Ainsi, les données actuelles ne sont pas suffisantes pour conclure qu'une exposition au BPA pendant la grossesse ou à l'âge adulte puisse entraîner une diminution de la quantité et de la qualité du sperme (NTP-CERHR, 2008).

Cependant, l'Afssa, dans son expertise de 2010, s'interroge sur la possibilité d'effets transgénérationnels en lien avec la fertilité chez le mâle et l'expression des récepteurs stéroïdiens observés après une exposition périnatale à faibles doses de BPA par Salian (2009a, b, c) en raison de trop nombreux biais méthodologiques. L'Afssa considère que les travaux de cette équipe constituent un signal d'alerte sans signification démontrée pour la santé humaine. Les résultats ne permettent pas d'établir une relation dose-réponse (Afssa, 2010a).

Le panel d'experts réuni sous l'égide de la FAO/OMS en 2010 a pris en compte les études publiées depuis 2008.

Les experts de ce panel estiment controversées les preuves en faveur de :

- modification de l'âge de la puberté chez les mâles F1,
- modification du poids et de l'histologie des organes reproducteurs mâles d'adultes exposés,
- modification du taux d'hormones chez les adultes exposés et chez les mâles F1,
- modification du poids, de l'histologie et de la qualité du sperme chez les mâles F1.

Les experts estiment considérables les incertitudes sur les effets conventionnels reprotoxiques du BPA par voie orale ou cutanée chez les rongeurs à des doses < 1 mg/kg pc/j.

Les experts estiment importantes les incertitudes quant :

- aux effets du BPA chez les rongeurs à des doses < 1 mg/kg pc/j par voie orale ou cutanée sur les cibles conventionnels en lien avec la reprotoxicité ou le développement,
- les effets potentiels chez l'homme aux niveaux d'exposition actuels.

Selon l'Inserm (2011), sur la base des données humaines, l'hypothèse d'un effet du BPA à l'âge adulte sur la production spermatique est à considérer sérieusement (Inserm, 2011). L'Inserm indique également que, dans plusieurs études récentes chez l'animal, effectuées sur la seule période gestation/lactation et avec une exposition à des doses faibles, des effets retrouvés dans les générations suivantes non exposées suggèrent une action sur la lignée germinale mâle, conduisant à des déficiences dans la fertilité des F1 et de leurs descendants mâles, même non exposés. Cependant, la pertinence de ces travaux pour prédire un danger pour l'homme chez lequel l'exposition est continue, reste relative (Inserm, 2011).

6.2.1 Données humaines

L'étude transversale de Li *et al.*, a permis de recruter des travailleurs masculins exposés au bisphénol A et d'estimer par questionnaire la fréquence de certains troubles de la fonction sexuelle, déclarés lors d'un entretien (Li *et al.*, 2011). La fréquence de ces troubles a été comparée à celle observée selon une même approche dans une population témoin constituée d'hommes non exposés au BPA. Le taux de participation était de 62% pour les personnes exposées vs 55% pour celles non exposées. Les auteurs ont conclu qu'il existait une association dose-réponse entre le niveau élevé d'une exposition cumulée de BPA et un risque élevé de troubles de la fonction sexuelle. Cependant, certaines questions demeurent : les entretiens, au cours duquel il fallait répondre à un questionnaire, ont-ils été réalisés à l'aveugle ? Comment ont été choisies les valeurs seuils des événements de la vie sexuelle ? Dans un deuxième article Li *et al.*, qui complète la première étude, un dosage de BPA dans les urines a été réalisé chez 427 travailleurs exposés au BPA (Li *et al.*, 2010b). Les résultats montrent une association entre une exposition au BPA et l'existence de dysfonctions sexuelles (un taux élevé de BPA dans les urines était significativement corrélé avec une augmentation des troubles de la fonction sexuelle).

En 2011, Li *et al.* ont mis en évidence un lien entre la qualité du sperme et la concentration urinaire en BPA, chez des travailleurs (taux élevé de BPA associé avec une diminution de la numération spermatique, de la mobilité et de la vitalité). Le taux de participation était de 58% (n= 514 sur 888 éligibles) mais l'analyse a été faite sur uniquement 218 hommes pour lesquels les auteurs disposaient d'une analyse du sperme et d'un dosage urinaire de BPA) (Li *et al.*, 2010a).

Dans une population d'hommes fertiles (partenaires de femmes enceintes), aucune corrélation n'a été mise en évidence entre les paramètres spermatiques et les concentrations urinaires de BPA (Mendiola *et al.*, 2010). Il a été uniquement observé une relation inverse entre concentration urinaire de BPA et l'index de testostérone libre (FAI) et le rapport FAI/LH.

Une étude similaire a été réalisée par Meeker *et al.* dans une population d'hommes inféconds (n=190). La concentration urinaire de bisphénol A était associée à une augmentation du taux plasmatique de FSH (contrairement à l'étude de Hanaoka *et al.* mais la population étudiée n'est pas la même (Hanaoka *et al.*, 2002), à une diminution du taux d'inhibine B et du ratio œstradiol/testostérone (considéré par l'auteur comme un marqueur de l'activité aromatase), ainsi qu'à une augmentation du ratio FSH/inhibine B (Meeker *et al.*, 2010a). Ces travaux laissent aussi supposer un lien entre une exposition au BPA et une altération de la qualité spermatique (uniquement pour les prélèvements urinaires réalisés le même jour que le prélèvement de sperme) mais ces données restent à confirmer (Meeker *et al.*, 2010b).

Récemment, dans une étude transversale à partir de la population générale, Galloway *et al.* ont mis en évidence, chez l'homme (n= 307) une relation entre le BPA dans les urines et la concentration en testostérone totale dans le sérum, soit plus la testostéronémie est élevée plus la concentration urinaire en BPA est élevée (Galloway *et al.*, 2010).

6.2.2 Données chez l'animal

6.2.2.1 Exposition pendant la gestation/lactation

Plusieurs équipes ont étudié les effets du BPA après une exposition au cours de la gestation/lactation. Ces études ont été réalisées chez le rongeur, soit chez la souris, soit chez le rat, avec une grande diversité dans les modalités d'exposition (dose, durée, voie d'exposition,...). Certaines études retrouvent des effets (Kabuto *et al.*, 2004; Okada et Kai, 2008; Salian *et al.*, 2009c; Watanabe *et al.*, 2003), d'autres non (Howdeshell *et al.*, 2008; Kobayashi *et al.*, 2002; Tinwell *et al.*, 2002).

En 2002, le travail de Tinwell chez le rat (Wistar et Sprague Dawley) n'avait pas permis de montrer d'effets significatifs après une exposition au BPA à des doses de 20 µg/kg, 100 µg/kg sur la fonction de reproduction mâle (taille des portées, sex-ratio, poids et poids des organes, distance anogénitale, réserve spermatique) (Tinwell *et al.*, 2002). De même, chez le rat Long-Evans mâle, aucune modification de différents paramètres de reproduction (distance anogénitale, poids des organes, production spermatique, puberté, et des niveaux d'hormones) n'a été observée après exposition à de l'éthinylestradiol (EE2) à des doses orales relativement faibles de 0,05 à 1,5 µg/kg pc/j ou de BPA à des doses de 2, 20, 200 µg/kg pc/j (Howdeshell *et al.*, 2008). Il est à noter que, dans cette étude, l'alimentation des rats contenait des phytoœstrogènes.

Watanabe *et al.* ont exposé des rates gravides et leurs petits (Sprague Dawley) du 6^{ème} jour de gestation au 20^{ème} jour de vie (les ratons, F1) par gavage à différentes doses 0 (contrôle), 4, 40, et 400 mg/kg pc/j (Watanabe *et al.*, 2003). Les testicules des animaux et le sang ont été récupérés à 9 et 36 semaines de vie. Les poids des testicules n'étaient pas modifiés. Par contre, les concentrations de testostérone plasmatique chez les rats (9 semaines) étaient significativement augmentées dès la dose de 4 mg/kg pc/jour, ceci sans modification des concentrations en LH, FSH et œstradiol. Ces résultats suggèrent un effet du BPA sur l'homéostasie de la testostérone chez les mâles avec notamment une éventuelle modification de l'activité aromatasase, ou une augmentation de l'activité enzymatique du cytochrome P450 SCC ou encore une baisse de la 5 α réductase. L'équipe de Kabuto a travaillé chez la souris (Kabuto *et al.*, 2004). Le but du travail était de rechercher des modifications des capacités antioxydantes endogènes et des dommages oxydatifs dans le cerveau, le foie, les reins, les testicules, après exposition au BPA. Ces dernières ont été exposées pendant la gestation et la lactation *via* l'eau de boisson à des doses de 5 ou 10 μ g BPA/mL. Les souris mâles ont été sacrifiées à 4 semaines. Il a été montré que le BPA pouvait induire un stress oxydatif et une peroxydation des tissus, conduisant notamment à une hypotrophie des testicules. Okada *et al.* ont aussi exposé des souris *via* un implant sous-cutané à des doses de 100 μ g ou 5000 μ g pendant la période de gestation/lactation (Okada et Kai, 2008). Les mâles ont été sacrifiés à 4 semaines. Différents paramètres (poids des organes reproducteurs, testostérone, analyse histologique) ont été analysés. Seul le pourcentage de tubes séminifères avec des spermatoïdes allongés était significativement plus bas chez les animaux exposés à 5000 μ g de BPA.

Plus récemment, dans l'étude de Salian, des rats (Holtzman) ont été exposés par gavage du 12^{ème} jour de gestation au 21^{ème} jour de vie à 2 doses de BPA (1,2 et 2,4 μ g/kg pc/j) (Salian *et al.*, 2009c). Le régime alimentaire était dépourvu de phytoestrogènes. En parallèle, un groupe témoin positif a été traité par le diéthylstilbestrol, DES, à une dose de 10 μ g/kg pc/ jour. A J75, les rats mâles ont été croisés avec des femelles non exposées. Les mâles (non exposés) des générations suivantes (F2 et F3) ont aussi été étudiés. A la première génération (F1), une augmentation significative des pertes post-implantatoires, une diminution de la taille des portées, du nombre et de la mobilité des spermatozoïdes ont été observés ainsi qu'une diminution significative des concentrations hormonales chez l'adulte (FSH, LH, testostérone, œstradiol). Dans les 3 générations, l'expression testiculaire des récepteurs aux œstrogènes β et des récepteurs aux androgènes était diminuée. Par contre, le profil d'expression des récepteurs α aux œstrogènes était augmenté, uniquement en première génération. L'effet maintenu dans les générations suivantes (F2, F3) pourrait évoquer l'implication de mécanismes génétiques/épigénétiques.

6.2.2.2 Exposition néonatale

Les deux seuls travaux étudiant cette période d'exposition ne rapportent pas les mêmes conclusions.

Dans le travail de l'équipe de Kato, les rats (Sprague Dawley) ont été exposés de la naissance au 9^{ème} jour de vie au BPA (2 et 9700 µg/kg pc/j) par voie sous-cutanée (Kato *et al.*, 2006). Le 17 β-oestradiol a été utilisé comme témoin positif. Les rats ont été observés aux 10^{ème}, 35^{ème} et 150^{ème} jours. Les résultats n'ont pas montré d'anomalies des paramètres de la reproduction, de perturbations hormonales ni de modifications de l'expression des gènes dans le testicule, quelle que soit la dose de BPA.

L'équipe de Salian a exposé, via des injections sous-cutanée, des rats (Holtzman) à différentes doses de BPA (100, 200, 400, 800, 1600 µg/kg pc/j) du premier jour de vie jusqu'à PND5 (Salian *et al.*, 2009b). Les rats ont ensuite été observés à différents temps après la fin de l'exposition (PND15 à PND90). Le DES a été utilisé comme témoin positif. Des anomalies de la spermatogenèse ont été mises en évidence avec une diminution des réserves épидидymaires et aussi de la mobilité des spermatozoïdes ainsi qu'une augmentation des pertes post-implantatoires et une diminution de la taille des portées. Il n'y avait pas d'effet dose. L'analyse immunohistochimique a révélé une diminution significative de l'expression de connexines 43, et une augmentation de l'expression de la N-cadhérine et de la zona-occludine-1, protéines constituant les jonctions adhérentes des cellules de Sertoli. Il est intéressant de noter qu'une étude récente a montré dans un modèle *in vitro* (Li *et al.*, 2009) que le BPA pouvait altérer la barrière hématotesticulaire en diminuant notamment l'expression de la connexine 43, ceci de manière réversible. Ainsi, ces altérations pourraient être un des mécanismes conduisant aux altérations de la spermatogenèse.

6.2.2.3 Exposition pubertaire

Seule l'étude de Della Setta *et al.* a étudié les effets du BPA sur la fonction de reproduction mâle à des doses compatibles avec une exposition humaine après une exposition pubertaire (Della Seta *et al.*, 2006). Ainsi, les rats ont été exposés au cours de la puberté (PND23 à PND30), par voie orale, à 40 µg/kg pc/j de BPA, et parallèlement un autre groupe de rats a été exposé à 0,4 µg/kg pc/j d'éthinylestradiol (EE2). Les observations sur les hormones et le comportement de l'animal ont été faites à PND37 et PND105.

Une diminution significative des concentrations de testostérone a été observée à la fois avec le BPA et l'EE2 chez les animaux juvéniles à PND37. Cette diminution persistait chez les animaux à l'âge adulte (à PND105) de manière statistiquement significative chez les animaux traités avec le BPA uniquement. Aucune modification significative de la concentration d'oestradiol n'a été observée que ce soit à PND37 et PND105. De plus, l'exposition au BPA modifie l'activité sexuelle

(séquence et durée des phases de l'accouplement) des mâles, réduisant les performances chez l'adulte mais de manière moins marquée qu'avec l'EE2.

6.2.2.4 Exposition chez l'adulte

L'étude de Chitra, exposant des rats (Wistar) à l'âge adulte par voie orale au BPA pendant 5 semaines à des doses de 0,2 ; 2 ; 20 µg/kg pc/j, a mis en évidence une diminution significative du poids relatif des testicules et épидидymes et une augmentation significative du poids relatif de la prostate ventrale ainsi qu'une diminution significative de la mobilité et de la numération des spermatozoïdes épидидymaires, ceci de manière dose-dépendante (Chitra *et al.*, 2003). De plus, l'effet antioxydant sur les spermatozoïdes a aussi été étudié. Ainsi, les activités de la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion réductase et la glutathion peroxydase étaient diminuées alors que les taux de H₂O₂ et la peroxydation des lipides étaient augmentées.

Herath *et al.* ont étudié aussi les effets du BPA, chez le rat (Wistar), au cours de la même période d'exposition, exposition du jeune adulte (J52) au BPA pendant 5 semaines, mais par une autre voie d'administration (sous-cutanée) et en utilisant une dose de 3000 µg/kg pc/j (Herath *et al.*, 2004). Ainsi, il a été observé une diminution significative de la production de spermatozoïdes sans modification de la mobilité, des variations significatives hormonales avec une diminution de la concentration plasmatique en testostérone, une augmentation de la progestérone ainsi qu'une augmentation du poids relatif de la prostate ventrale.

Ainsi, même si la fertilité des rats *in fine* n'a pas été évaluée, ces deux études retrouvent des effets qui vont dans le même sens, sur la production spermatique et le poids de la prostate ventrale, pour une même période d'exposition. On peut donc conclure à un effet avéré du BPA sur la production spermatique lors d'une exposition adulte.

Sakaue *et al.* n'ont pas retrouvé de modification significative de la production spermatique mais ceci après une exposition de seulement 6 jours (à la différence des 2 études précédentes qui exposaient les rats pendant 5 semaines) et une observation 5 semaines après, ceci contrairement aux changements dans la production spermatique rapportés dans une étude plus ancienne (Sakaue *et al.*, 2001).

6.2.2.5 Exposition multigénération de la conception à l'âge adulte

Les deux études de Tyl *et al.* ont été réalisées selon la ligne directrice 416 de l'OCDE chez les rongeurs (rats (Tyl *et al.*, 2002) et souris (Tyl *et al.*, 2008), respectivement) exposés par gavage au BPA (0,003; 0,03; 0,3; 5; 50 et 600 mg/kg pc/j chez la souris, et de 0,001; 0,02; 0,3; 5; 50 et 500 mg/kg pc/j chez le rat). Un groupe témoin positif a été exposé parallèlement au 17-β-oestradiol. Les rongeurs ont été exposés 10 semaines avant l'accouplement puis de la conception à l'âge adulte (exposition chronique). Les mâles et les femelles d'un même groupe ont été croisés à l'âge adulte. Trois générations de mâles et de femelles ont été étudiées. De nombreux

paramètres de fertilité ont été étudiés (poids des organes, réserve spermatique, mobilité spermatique, ...).

Pour les doses compatibles avec une exposition humaine, aucun effet sur la reproduction mâle que ce soit chez le rat ou chez la souris n'a été observé.

Au cours de ces études, l'alimentation des animaux n'était pas dépourvue de phytoestrogènes.

Tableau V : Tableau récapitulatif des études animales sur les effets du bisphéno A sur l'appareil reproducteur mâle

Références	Espèce/ souche	Voie	Doses Périodes d'exposition	Effets NOAEL/LOAEL
(Howdeshell <i>et al.</i> , 2008)	Rat Long Evans mâles	Orale	2 - 20 - 200 µg/kg pc/j GD7 - PND18	Observations faites à l'âge adulte : aucun effet significatif observé sur les poids des organes de l'appareil reproducteur et sur la réserve spermatique épидидymaire
(Salian <i>et al.</i> , 2009a)	Rat Holtzman	Orale	1,2 - 2,4 µg/kg pc/j GD12 - PND21	F1, F2 et F3 <u>1,2 ou 2,4 µg/kg pc/j</u> : ↗ marquage SRC-1 dans tubules au stade III. ↗ marquage GRIP-1 dans tubules au stade IX et spermatides allongées. ↗ marquage p/CIP aux stades précoces (uniquement à 1,2 µg/kg pc/j F2 et F3). ↓ de l'intensité du marquage NCoR des cellules de Leydig (noyau et cytoplasme).
(Salian <i>et al.</i> , 2009c)	Rat Holtzman	Orale	1,2 - 2,4 µg/kg pc/j GD12 - PND21	F1, F2, F3 <u>1,2 et 2,4µg/kg pc/j</u> : ↘ taille des portées ↗ significative des pertes post-implantatoires ↗ poids corporel (sauf F1 à 2,4µg/kg pc/j) ↘ nombre et mobilité des spermatozoïdes ↗ délai accouplement ↘ profil expression ER β testiculaire ↘ profil expression AR testiculaire (sauf F2 et F3 à 2,4µg/kg pc/j)
(Watanabe <i>et al.</i> , 2003)	Rat	Orale	4 - 40 et 400 mg/kg pc/j GD6 - PND20	<u>Observations faites à l'âge adulte PND63 et PND252</u> : Augmentation significative de la testostéronémie à 9 semaines uniquement sans modification des concentrations en LH et FSH
(Kabuto <i>et al.</i> , 2004)	Souris ICR	Orale	5 ou 10 µg BPA/mL d'eau de boisson une semaine avant accouplement - PND28	<u>Observations faites à 4 semaines de vie</u> : Modifications des capacités antioxydantes endogènes et des dommages oxydatifs dans différents organes dont les testicules chez la souris, quelques soit la dose. Diminution du poids testiculaires (non relatifs) après exposition à 10 µg de BPA/mL d'eau de boisson.
(Tinwell <i>et al.</i> , 2002)	Rat Sprague Dawley et Alderley park (dérivé de Wistar)	Orale	20 µg/kg, 100 µg/kg pc, 50 mg/kg avec de l'EE : 200 µg/kg GD6 - GD21	<u>Observations faites à l'âge adulte</u> : Diminution significative de la réserve spermatique mais uniquement à une dose élevée 50 mg/kg chez les rats AP

(Okada et Kai, 2008)	Souris ICR	Sous-cutanée	40 µg/kg pc/j et 2 mg/kg pc/j 3 jours avant croisement jusqu'à l'accouplement	<u>Observations faites au 28^{ème} jour</u> : Diminution du pourcentage de tubes séminifères ayant des spermatozoïdes matures chez les souris exposées à 5000 µg (60 µg/j) BPA. Pas de modification pour les autres paramètres observés (poids des organes reproducteurs, testostérone, analyse histologique).
(Salian <i>et al.</i> , 2009b)	Rat Holtzman	Sous-cutanée	100 - 200 - 400 - 800 - 1600 µg/kg pc/j PND1-5	<u>Observation à l'âge adulte</u> : Altération des paramètres de fertilité avec une augmentation significative du temps de copulation et une augmentation significative des pertes postimplantatoires, à partir d'une exposition au BPA à 200 µg/kg pc/j. Diminution de la taille des portées à partir de cette même dose. Diminution significative de la production spermatique et de leur mobilité. Modification testiculaire avec une diminution significative de l'expression de Cx-43 (PND 45 et 90) et une augmentation de l'expression de N-cadherin (PND 45 et 90) et ZO-1 (PND 90).
(Kato <i>et al.</i> , 2006)	Rat Sprague Dawley	Sous-cutanée	2 - 97000 µg/kg pc/j PND0- PND9	Pas d'anomalies des paramètres reproductifs ni des taux d'hormones. Pas de modifications de l'expression des gènes dans le testicule, quelle que soit la dose de BPA
(Della Seta <i>et al.</i> , 2006)	Rat Sprague Dawley	Orale	40 µg/kg pc/j PND23 - PND30	<u>Observations faites à la puberté et à l'âge adulte</u> : Diminution des performances sexuelles chez l'adulte; diminution de la testostéronémie chez les animaux juvéniles persistant chez les adultes.
(Herath <i>et al.</i> , 2004)	Rat Wistar	Sous-cutanée	3000 µg/kg/j PND52 - PND87	<u>Observations faites à l'âge adulte</u> : Diminution significative du taux de testostérone plasmatique et du nombre de spermatozoïdes épидидymaires (sans modification de la mobilité spermatique). Augmentation significative du poids de la prostate ventrale avec un taux élevé d'IGF-I
(Chitra <i>et al.</i> , 2003)	Rat Wistar	Orale	0,2 - 2 - 20 µg/kg pc/j PND45 – PND90	<u>Observations faites à l'âge adulte</u> : Diminution significative des poids relatifs des testicules et épидидymes, augmentation significative du poids relatif de la prostate ventrale. Diminution significative (dose dépendant) de la mobilité et de la numération des spermatozoïdes épидидymaires. Modifications des enzymes impliquées dans le stress oxydatif
(Sakaue <i>et al.</i> , 2001)	Rat Sprague-Dawley	Orale	0,02 - 0,2 - 2 - 20; 200 mg/kg pc/j Exposition de 6 jours à l'âge adulte	Pas de modification significative de la production spermatique

			(11 semaines)	
(Tyl <i>et al.</i> , 2008)	Souris	Orale	0,003 - 0,03 - 0,3 - 5 - 50 et 600 mg/kg pc/j Exposition 10 semaines avant l'accouplement jusqu'à l'âge adulte	Dans la large gamme de doses étudiée, et plus particulièrement aux doses compatibles avec une exposition humaine, pas d'effet sur la reproduction. Présence d'effets aux plus fortes doses (non pertinentes pour l'exposition humaine).
(Tyl <i>et al.</i> , 2002)	Rat	Orale	0,001 - 0,02 - 0,3 - 5 - 50 et 500 mg/kg pc/j Exposition 10 semaines avant l'accouplement jusqu'à l'âge adulte	Dans la large gamme de doses étudiée, et plus particulièrement aux doses compatibles avec une exposition humaine, pas d'effet sur la reproduction. Présence d'effets aux plus fortes doses (non pertinentes pour l'exposition humaine).

6.2.3 Conclusion

Les experts soulignent la difficulté de conclure sur la base des études épidémiologiques car celles-ci ne sont pas totalement convergentes. Il est important de noter que les populations étudiées ne sont pas toujours les mêmes (hommes féconds et inféconds). **Chez l'homme, les effets du BPA sur le système reproducteur masculin sont controversés.**

Chez l'animal, les effets sur la production spermatique (diminution du nombre de spermatozoïdes) dus à une exposition de 5 semaines à l'âge adulte au BPA sont avérés. En effet, les résultats des études de Chitra *et al.* et Herath *et al.* par voie sous-cutanée sont convergents, pour une même période d'exposition (exposition limitée à l'âge adulte) (Chitra *et al.*, 2003; Herath *et al.*, 2004).

Chez l'animal, les effets sur le système reproducteur mâle dus à une exposition pendant les périodes d'exposition prénatale, néonatale et post-natale (lactation) sont controversés.

Chez l'animal, les effets sur le système reproducteur mâle (diminution des concentrations plasmatiques de testostérone, modification de l'activité sexuelle) dus à une exposition pendant la période pubertaire, sont suspectés.

- **L'altération de la production spermatique est un effet à retenir pour l'évaluation des risques sanitaires.**

6.3 Effets sur le système reproducteur femelle

Données chez la femme :

Selon les rapports de Santé Canada (2008) et de l'OEHHA (2009), les études épidémiologiques, rapportent un lien entre l'exposition au BPA et l'hyperplasie endométriale, les fausses couches à répétition, le syndrome des ovaires polykystiques et des concentrations élevées d'androgènes. Cependant, ces études présentent des biais méthodologiques importants qui empêchent de considérer ces effets comme avérés (OEHHA, 2009; Santé Canada, 2008).

Selon le FAO/OMS (2010), chez la femme, une seule étude avec un faible effectif (n=84) a examiné le lien entre BPA et production d'ovocytes et le pic d'oestradiol sérique (Mok-Lin *et al.*, 2010). Selon ce panel d'experts une conclusion ne peut pas être tirée à partir de cette étude unique. Deux études ont examiné le lien entre BPA et l'avancement de l'âge de la puberté mais elles sont de qualité limitée et non convergentes (Wolff *et al.*, 2008a ; Wolff *et al.*, 2010). Les experts du panel recommandent la conduite d'étude prospective afin d'investiguer l'association entre BPA et les effets du BPA sur l'âge de la puberté. De plus, les experts de ce panel soulignent l'absence d'étude réalisée chez les garçons (FAO/OMS, 2010).

Données chez l'animal :

Selon, le NTP-CERHR, les résultats obtenus sur différents modèles animaux sont divergents et certaines études présentent des biais méthodologiques qui rendent difficile leur interprétation (NTP-CERHR, 2008). Les résultats concernant la puberté précoce sont jugés controversés.

En revanche selon la FDA, les études relatant un retard d'ouverture vaginale à fortes doses chez l'animal sont convaincantes, même si ce paramètre n'est pas une mesure directe de la puberté mais un indicateur de la maturation sexuelle (FDA, 2008).

Selon le FAO/OMS, de nombreuses études ont été réalisées chez les rongeurs et autres animaux domestiques. Des effets reprotoxiques ou développementaux n'ont été observés que chez les rongeurs; leur extrapolation à l'Homme reste sujette à discussion et il est important selon eux de tenir compte des différences entre espèces en termes de périodes critiques de développement et de différenciation sexuelle (FAO/OMS, 2010).

Les experts de ce panel estiment que les preuves sont controversées pour les effets suivants :

- altération de l'âge de la puberté chez les femelles F1,
- modification du poids et de l'histologie des organes reproducteurs femelles d'adultes exposés,
- modification du taux d'hormones chez les adultes exposés et chez les femelles F1.

Selon l'Inserm de faibles doses de BPA pendant des épisodes critiques de développement ont des effets sur l'avancement de l'âge de la puberté, entraînent des modifications du cycle estrien, du comportement maternel et sexuel et des effets bénins, pré-malins et néoplasiques sur le tractus génital de la femelle (altération histologique de l'utérus et du vagin, hyperplasie kystique endométriale, kystes ovariens) (Inserm, 2011).

6.3.1 Données humaines

6.3.1.1 Effets utérins

- **Endométriose**

Dans une étude italienne, le BPA est plus fréquemment détecté dans le plasma de femmes atteintes d'endométriose (n=58) que chez des femmes sans endométriose (n=11). Le BPA n'a pas été retrouvé dans le groupe contrôle. Dans 51,7% des cas d'endométriose, le BPA se situait au-dessus de la limite de détection. Seuls 25,9% des cas avaient un taux de BPA supérieur à la limite de quantification (Cobellis *et al.*, 2009). La méthodologie est discutable du point de vue de la constitution des groupes (critères d'inclusion, dates d'étude, nombre de sujets très faible dans le groupe contrôle et pathologies présentées dans le groupe contrôle). La technique analytique utilisée est adaptée (HPLC-fluo avec détection MS). Cependant l'impact d'une déconjugaison au cours de l'extraction n'est pas évalué. Il est à noter que du BPA libre n'est jamais détecté dans le plasma de la population contrôle.

Une deuxième étude évalue l'association entre endométriose et taux urinaires de BPA chez 140 femmes japonaises consultant pour infertilité primaire entre janvier 2000 et décembre 2001, réparties en deux sous groupes : stade 0-I d'endométriose n=81 et stade II-IV, n=59 (Itoh *et al.*, 2007). Une analyse transversale est effectuée entre le taux de BPA conjugué urinaire (non ajusté et ajusté à la créatinine) et le stade de l'endométriose. Les auteurs ne retrouvent pas d'association significative. Les taux de BPA conjugué urinaire retrouvés semblent compatibles avec les taux retrouvés au Japon dans plusieurs études sur la population générale. Deux principales limites pondèrent l'interprétation de cette étude. Premièrement, le dosage du BPA urinaire ne reflète pas une imprégnation au long cours mais une exposition récente. Deuxièmement, il n'y a pas de groupe témoin véritable, dépourvu de pathologie.

- **Hyperplasie de l'endomètre**

Une étude *a priori* prospective (critères et dates d'inclusion non spécifiées) suggère que les taux de BPA circulant seraient plus faibles chez des femmes atteintes d'hyperplasie utérine complexe (n=9) et/ou d'adénocarcinome utérin (n=7) que chez des femmes présentant une histologie

endométriale normale (n=11) ou une hyperplasie endométriale modérée (n=10) (Hiroi *et al.*, 2004). La méthode analytique est discutable (ELISA) et le BPA a été mesuré sur un unique prélèvement plasmatique dans des conditions non contrôlées (il est présent chez tous les sujets). De plus, le nombre de patients dans chaque sous-groupe est très limité. Cette étude a été écartée.

6.3.1.2 Grossesse

Une étude cas-témoin a évalué l'association entre l'exposition au BPA et l'incidence des fausses-couches spontanées (Sugiura-Ogasawara *et al.*, 2005). Les auteurs reportent un taux sérique de BPA supérieur chez les femmes ayant un antécédent de 3 fausses couches. Toutefois, cette étude reste très controversée notamment sur le plan du protocole de mesure du BPA (méthode ELISA), sur la comparabilité des groupes, en raison d'autres facteurs confondants de fausse-couche, sur le plan de l'analyse des résultats (niveaux sériques médians identiques dans les deux groupes) et sur les outils statistiques choisis (Berkowitz 2006).

Cantonwine *et al.* ont étudié la relation entre le taux d'accouchements prématurés et les concentrations urinaires totales en BPA sur un unique prélèvement réalisé entre 30 et 37 semaines de grossesse dans une population mexicaine (Cantonwine *et al.*, 2010). Le résultat le plus concluant pour les auteurs serait une concentration plus élevée chez les femmes accouchant avant 37 semaines et qu'une augmentation de 1 log des concentrations en BPA serait associée à une avance de la date d'accouchement de 4,5 jours (méthode des « ODDS ratio »). L'analyse de ces données est problématique : seules 12 femmes sur 60 ont accouché avant 37 semaines. De plus, la différence par rapport aux femmes ayant accouché à terme n'est plus significative si l'on normalise les concentrations en BPA par rapport à la densité urinaire et/ou la concentration en créatinine. Enfin, l'absence de certaines informations limite encore plus la portée de l'étude (moment du prélèvement urinaire par rapport au stade de grossesse et par rapport à la prise alimentaire,...).

6.3.1.3 Effets ovariens

Une étude prospective ayant inclus des femmes (n = 84) suivant un protocole de stimulation ovarienne dans le cadre d'une fécondation *in vitro* (FIV), indique qu'il y aurait une corrélation négative entre les niveaux urinaires de BPA (n=203 échantillons d'urines sur 112 cycles de FIV) et la réponse ovarienne (nombre d'ovocytes collectés et amplitude du pic préovulatoire d'œstradiol). Une diminution moyenne de 12% du nombre d'ovocytes retrouvés par cycle et de 213 pg/mL du pic d'œstradiol pour chaque augmentation d'une unité log de BPA-SG urinaire (BPA specific-gravity, c'est-à-dire la concentration de BPA corrigée par la densité urinaire) a été observée (Mok-Lin *et al.*, 2010). L'étude a comparé les concentrations de BPA urinaires à celles observées dans la population générale dans la cohorte NHANES 2003-2008. La concentration de BPA urinaire retrouvée reflète une exposition au moment du prélèvement et non durant la période de maturation folliculaire, plusieurs mois auparavant. De plus, il est délicat d'extrapoler à la population générale des résultats observés chez un échantillon de femmes infertiles consultant

pour une fécondation *in vitro*. Ces résultats sont néanmoins concordants avec ceux d'une étude récente qui montre qu'une exposition au BPA serait associée à une diminution de la probabilité de succès de FIV (taux de fécondation) attribuée à une altération de la qualité des ovocytes (Fujimoto *et al.*, 2011). Bien qu'il s'agisse d'un groupe de patients assez limité, les auteurs indiquent que les unités d'étude étaient des ovocytes dont la quantité était 13 en moyenne par cycle et par femme.

Une étude transversale a été réalisée au Japon à partir de femmes souffrant d'un syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) (Takeuchi *et al.*, 2004). Les femmes souffrant de SOPK étaient obèses (n=6) ou non (n=13) et les femmes ne souffrant pas de SOPK étaient réparties en plusieurs catégories : pas de trouble du cycle menstruel et poids corporel normal (n=19), pas de troubles du cycle et obésité (n=7), troubles du cycle associés à une hyperprolactinémie (n=7), troubles du cycle associés à une aménorrhée d'origine hypothalamique (n=21). Le BPA a été dosé dans le plasma à jeun par une méthode immunoenzymatique non validée. Le BPA est présent chez tous les sujets. L'analyse statistique est peu détaillée, les effectifs sont faibles, la comparaison finale est faite par rapport aux femmes non obèses, sans trouble du cycle (considérées comme témoins). Sur l'ensemble des individus, l'étude montre une corrélation entre concentrations plasmatiques en testostérone (libre et totale) et BPA d'une part, et concentration en BPA et indice de masse corporelle d'autre part : les taux sont significativement augmentés chez les femmes ayant un SOPK (obèses ou non) et les obèses sans trouble de l'ovulation. Les résultats restent difficilement interprétables en l'état, à cause de l'imprécision du plan d'échantillonnage, du manque d'information sur les critères d'inclusion et de l'absence de prise en compte dans les résultats des pathologies des témoins.

Cette étude rejoint néanmoins celle de Kandarakis *et al.* qui retrouve des concentrations sériques en BPA significativement plus importantes chez les femmes atteintes de SOPK (n=71) (obèses ou non) comparées à des femmes témoins normales (n=100) (Kandarakis *et al.*, 2011). De plus, les concentrations en BPA sont significativement corrélées aux concentrations en testostérone et à une insulino-résistance. Les femmes atteintes de SOPK étaient divisées en obèses (n=33) ou non obèses (n=38) et étaient comparées à des femmes présentant une cyclicité ovarienne normale (obèses : n=49 ou non obèses : n=51). La principale limite de cette étude réside dans la méthode analytique (ELISA) qui ne discrimine pas les différentes formes de BPA. On peut toutefois considérer les concentrations obtenues comme un indicateur global de l'exposition au BPA.

6.3.2 Données chez l'animal

6.3.2.1 Exposition prénatale, périnatale et pré-pubertaire

6.3.2.1.1 Effets sur le tractus génital et les ovaires

Une exposition orale à 1,2 mg/kg pc/j de BPA chez des rates pendant la gestation et la lactation serait suspectée d'induire chez les descendantes une augmentation de l'épaisseur de l'épithélium et du stroma de l'utérus, une diminution de l'apoptose de l'épithélium utérin, des troubles du cycle œstral, et une diminution de l'expression des récepteurs ER α dans les cellules épithéliales de l'utérus pendant la phase d'œstrus (Mendoza-Rodríguez *et al.*, 2011). Ces résultats sont à comparer avec ceux obtenus par Markey en 2005. Dans cette étude, des femelles souris CD-1 âgées de 3 mois issues de mères traitées à très faibles doses (25 et 250 ng/kg pc par pompe sous-cutanée de GD9 à PND4) présentent une diminution du poids du vagin, une altération de la synthèse d'ADN dans l'épithélium utérin (250 ng) et une augmentation de l'expression de ER α et PR (récepteur à la progestérone) significative à la plus faible dose (Markey *et al.*, 2005).

Chez la souris Balb-C, une exposition *in utero* et avant sevrage au BPA (mères traitées à 100 et 1000 μ g/kg pc/j par voie sous-cutanée) est associée au développement de structures évoquant une endométriose dans la graisse péri-utérine, à une augmentation de l'incidence d'ovaires kystiques et d'hyperplasies endométriales (Signorile *et al.*, 2010).

D'après les études analysées, le BPA serait suspecté d'être lié au développement de pathologies ovariennes et notamment d'ovaires polykystiques chez des souris CD-1 issues de mères traitées au BPA du PND1 à PND5 (10, 100, 1000 μ g/kg pc/j par voie sous-cutanée) (Newbold *et al.*, 2007). Dans tous les groupes traités au BPA et quelle que soit la dose, des animaux ont présenté des pathologies ovariennes et/ou utérines (lésions prolifératives de l'utérus bénignes, pré-malignes et néoplasiques) peu ou pas représentées dans le groupe contrôle. Cependant, seule l'augmentation des fréquences d'apparition d'ovaires polykystiques et d'hyperplasie endométriale kystique dans le groupe traité à 100 μ g/kg pc/j était statistiquement significative. La même équipe retrouve des résultats similaires pour une exposition plus tardive dans la gestation (GD9 à GD16) et ce, dès 10 μ g/kg pc/j (Newbold *et al.*, 2009). L'augmentation de la fréquence d'apparition de kystes ovariens est significative à 1 μ g/kg pc/j. Des lésions semblables ont été retrouvées par Signorile *et al.* chez les descendantes de souris Balb-c exposées à des plus fortes doses de BPA (100 et 1000 μ g/kg pc/j) pendant la gestation et la lactation (Signorile *et al.*, 2010).

De même, chez le rat, un traitement au BPA par voie sous-cutanée en période néonatale (0,25 à 25 mg/kg pc/j) est associé au développement de phénotypes similaires à un syndrome d'ovaires polykystiques. Bien que les effets soient significatifs dès la plus faible dose, les doses utilisées

sont élevées (Fernandez *et al.*, 2010). Adewale *et al.* rapporte une réduction de l'âge à la puberté, une augmentation de la proportion d'animaux acycliques et des dysfonctionnements ovariens parmi les descendantes des femelles traitées de PND0 à PND3 par 50 µg/kg pc/j ou 50 mg/kg pc/j de BPA (Adewale *et al.*, 2009). Le témoin positif utilisé est le benzoate d'œstradiol (25 µg – unité non précisée par l'auteur). Cependant, dans l'étude de Nikaido *et al.*, l'exposition néonatale prépubertaire (15 à 19 jours) au BPA (10 µg/kg pc/j sous-cutané) n'entraîne aucune modification de l'utérus ou du vagin ou du développement mammaire, bien que plus de 80% des animaux traités présentent un état anovulatoire (absence de corps jaunes) à 4 semaines (Nikaido *et al.*, 2005). De plus, dans cette étude, l'exposition au BPA n'affecte ni l'âge à la puberté, ni la cyclicité ovarienne.

De même, des rates Long Evans en gestation ont été traitées au BPA (2, 20, and 200 µg/kg pc/j) ou à l'éthinylestradiol (EE2, 50 µg/kg pc/j) de GD7 à PND18 par voie orale (Ryan *et al.*, 2010a). Contrairement au contrôle positif (EE2), les femelles issues des mères traitées au BPA ne présentent aucune modification de poids corporel, d'âge à la puberté, de distance anogénitale, de fertilité ou de comportement sexuel. Enfin, des F1 issus de rates Sprague Dawley traitées au BPA dans l'eau de boisson pendant la gestation et la lactation (dose ingérées estimées à 0,1 à 1,2 mg/kg pc/j), ne présentent pas de différence d'âge à la puberté ou de distance anogénitale à la naissance (Rubin *et al.*, 2001). En revanche, les femelles après la puberté présentent une irrégularité des cycles ovariens et une sécrétion de LH diminuée après castration. Cette étude présente d'excellentes garanties et suggère que l'exposition développementale au BPA pourrait induire, chez le rongeur, une altération de l'ontogénèse de la fonction gonadotrope.

Par ailleurs, les descendantes de souris CD1 traitées par des pompes osmotiques sous-cutanées à de très faibles doses de BPA à partir du 8^{ème} jour de gestation jusqu'au 16^{ème} jour de lactation, étudiées sur plusieurs gestations successives présenteraient une diminution de la fertilité et de la fécondité (nombre de gestations sur une période de 32 semaines et nombre de petits par mise bas et nombre total de petits nés sur les 32 semaines d'étude) à 25 ng/kg pc/j et 25 µg/kg pc/j mais pas à 250 ng/kg pc/j. Ces effets ne sont visibles qu'après 5 à 6 gestations (Cabaton *et al.*, 2010). Ces résultats pourraient être expliqués par une relation dose-réponse non monotone de type courbe en U. Toutefois, des études plus poussées sont nécessaires, incluant un plus grand nombre de doses afin de mieux caractériser ce type de relation dose-réponse. Selon les auteurs, le BPA accentuerait la décroissance « physiologique » du nombre de petits par portée en fonction de l'âge, de façon similaire au contrôle DES. Cette étude est intéressante, d'une part car elle présente d'excellentes garanties du point de vue du contrôle des conditions expérimentales, mais aussi parce qu'elle pourrait expliquer l'absence d'effet dans d'autres études similaires pour lesquelles les observations ont été limitées à la première gestation des F1 issus de mères exposées, comme par exemple l'étude de Ryan (Ryan *et al.*, 2010a) et celle de Zoeller (Zoeller *et al.*, 2005) réalisées chez le rat. Dans cette dernière, le BPA administré à des rates gestantes du

7ème jour de gestation jusqu'à la fin de la gestation par voie orale à des doses de 1 à 50 mg/kg pc/j ne semble pas affecter le développement *in utero* des petits (Zoeller *et al.*, 2005).

6.3.2.1.2 Effets sur l'axe hypothalamo hypophysaire gonadotrope

Chez les rongeurs, la période néonatale (PND1 à 10) est une période critique pour la mise en place du système hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope (HHG). L'exposition au BPA pendant cette période entraîne des modifications de la sécrétion d'hormones hypothalamo-hypophysaires. Elles concernent notamment le niveau et la fréquence des sécrétions hormonales et seraient responsables de perturbations de la reproduction sur le long terme.

Le traitement des brebis pendant la gestation sur une période couvrant l'ontogénèse et la différenciation sexuelle du système à GnRH (5 mg/kg pc/j par voie intramusculaire, de GD30-GD90) est associé à des anomalies de fonctionnement de l'axe HHG chez les descendants femelles : hypersécrétion de LH en période prépubère, modification du pic préovulatoire de LH (rétrocontrôle positif de l'œstradiol) (Savabieasfahani *et al.*, 2006). Ce même traitement induit une diminution de l'expression du gène du GnRH, une augmentation de l'expression du récepteur aux œstrogènes ESR1 (ER α) et une diminution de l'expression du récepteur ESR2 (ER β) dans l'aire préoptique (Mahoney et Padmanabhan, 2010). Les auteurs ont dosé les concentrations plasmatiques en BPA non conjugué en cours de traitement et affirment que ces concentrations sont proches des niveaux plasmatiques maximums décrits chez la femme enceinte (~10 ng/mL). La période de prélèvement par rapport aux administrations n'est pas précisée mais il est probable que ces concentrations correspondent à des concentrations résiduelles et ne soient pas représentatives de l'exposition de l'animal sur 24h. De même, le traitement de brebis prépubères par voie intramusculaire 2 fois/semaine pendant 5 semaines par du diéthylstilbestrol (DES ; 0,175 mg/kg) ou du BPA (3,5 mg/kg) a conduit à une diminution de la fréquence et de l'amplitude des pulses de LH après ovariectomie chez ces animaux par rapport aux contrôles (Evans *et al.*, 2004). Le traitement de brebis prépubères au BPA sur des courtes durées (4 jours) à différentes doses (perfusion intraveineuse à 0,5 - 1 - 2,5 - 5 - 10 - 20 - 40 et 80 mg/kg pc/j), a permis de mettre en évidence des effets du BPA sur le système générateur de pulse de LH qualitativement similaires aux effets du 17 β -œstradiol (contrôle positif) et semblant obéir à deux types de mécanismes : effets inhibiteurs immédiats à forte dose et effets retardés exprimés à plus faible dose conduisant à des concentrations plasmatiques de l'ordre de 38 ng/mL (2 fois les valeurs les plus élevées décrites chez l'Homme) (Collet *et al.*, 2010). Le BPA est beaucoup moins puissant que l'œstradiol en tant qu'inhibiteur de la sécrétion pulsatile de LH. La plus faible concentration plasmatique en œstradiol associée à une inhibition de la sécrétion pulsatile de LH est de 2 pg/mL contre 38 ng/mL pour le BPA.

Compte tenu de ces études chez la brebis, le BPA est suspecté d'altérer l'ontogénèse du système à GnRH/LH contrôlant la sécrétion pulsatile de LH. De plus, des effets sont retrouvés à court terme

sur le système neuroendocrinien contrôlant la sécrétion pulsatile de LH avec une EC_{50} proche des concentrations plasmatiques les plus élevées décrites chez l'être humain. Toutefois, la pertinence du modèle reste posée, la brebis prépubère est en effet particulièrement plus sensible que l'humain au rétrocontrôle négatif de l'œstradiol.

Fernandez *et al.* reporte une augmentation des sécrétions de GnRH, de progestérone (effet significatif dès la plus faible dose) et une augmentation des sécrétions d'œstradiol et testostérone chez le rat traité au BPA par voie sous-cutanée (0,25 à 25 mg/kg pc/j) en période néonatale (PND1 à 10) (Fernandez *et al.*, 2010). Néanmoins les effets sont obtenus pour les 2 plus fortes doses. Rubin *et al.* reportent une irrégularité des cycles ovariens et une diminution de la sécrétion de LH après castration chez des F1 issus de rates SD traitées au BPA dans l'eau de boisson (doses ingérées estimées à 0,1 à 1,2 mg/kg pc/j) (Rubin *et al.*, 2001). En revanche, Adewale *et al.* suggèrent que le BPA perturbe le développement ovarien mais pas la sensibilité des neurones à GnRH au rétrocontrôle positif de l'œstradiol à l'origine de la genèse du pic préovulatoire de LH (Adewale *et al.*, 2009). Les rates ont reçu 50 µg/kg pc/j ou 50 mg/kg pc/j de BPA. L'induction de l'expression du protooncogène C-Fos dans les neurones à GnRH suivant une dose préovulatoire d'œstradiol (rétrocontrôle positif) n'était pas modifiée chez les animaux traités au BPA alors qu'elle était diminuée chez les animaux traités au contrôle positif (benzoate d'estradiol).

Le neuropeptide KISS est impliqué dans le contrôle central de la fonction de reproduction et notamment de la puberté. Il est exprimé entre autre dans 2 structures, les noyaux Antéro-Ventrale Périvericulaire (APV) et arqué (ARC). Une exposition au BPA en période post-natale de jeunes rats Wistar (100 à 500 µg/rat du jour 1 au jour 5) diminue la quantité d'ARNm du peptide KISS mesurée par RT-PCR dans la totalité de l'hypothalamus chez les mâles et les femelles prépubères à 30 jours. Cet effet perdure chez les mâles à 75 jours (Navarro *et al.*, 2009). Cinquante µg/kg pc/j et 50 mg/kg pc/j de BPA ont été administrés par voie sous cutanée du 1^{er} au 5^{ème} jour de vie à de jeunes rats Long Evans (Patisaul *et al.*, 2009). Deux contrôle positif étaient inclus : benzoate d'œstradiol (EB 25 µg/rat) et un agoniste des ER α (PPT 1 mg/kg). L'immunoréactivité KISS a été mesurée chez les mâles pubères intacts et sur les femelles ovariectomisées après la puberté et soumises à un traitement stéroïdien substitutif (10 µg de benzoate d'œstradiol suivi à 48h de 500 µg de progestérone). Dans l'APV, l'EB et le PPT induisent une diminution de l'immunoréactivité KISS par rapport aux contrôles non traités, le BPA n'a pas eu d'effets significatifs. Dans l'ARC, seul l'EB a diminué l'immunoréactivité KISS. Chez les mâles, l'immunoréactivité KISS n'a été affectée par aucun traitement et ce quelle que soit la structure.

6.3.2.1.3 Effets sur l'âge à la puberté

Chez l'animal, les expositions limitées à la gestation (deuxième moitié chez la souris) indiquent de façon assez cohérente une avance de la maturation sexuelle évaluée par l'âge à l'ouverture vaginale et/ou l'âge au premier œstrus (Honma *et al.*, 2002; Howdeshell *et al.*, 1999; Nikaido *et al.*,

2004). Il est à noter que l'âge à l'ouverture vaginale n'est qu'un indicateur de maturation sexuelle et ne donne qu'une appréciation indirecte du degré d'avancement du processus pubertaire. Dans l'étude de Howdeshell par exemple, aucun effet significatif du BPA sur l'âge à l'ouverture vaginale n'a été observé alors qu'une diminution assez importante du délai entre cette ouverture et la survenue du premier œstrus a été notée. En outre, cette étude met clairement en exergue le fait que l'effet du BPA sur la maturation pubertaire peut être largement modulé par l'environnement intra-utérin. Ainsi, l'effet du BPA n'est que peu ou pas exprimé chez les fœtus femelles ayant été entourés de deux fœtus mâles pendant la gestation. Cette étude souligne donc clairement une des limites majeures du modèle rongeur et, partant, des autres études ayant estimé l'âge à la puberté sans intégrer cette notion d'environnement intra-utérin. Une unique étude a été conduite dans un autre modèle animal ne présentant pas cette limite (ovin) avec une exposition à forte dose (5 mg/kg pcj) par voie sous-cutanée (2/5^{ème} de la gestation) et ne montre pas d'incidence sur l'âge au premier cycle œstral (Savabieasfahani *et al.*, 2006). Toutefois, il est à noter que la survenue de ce premier cycle chez la brebis peut être conditionnée par l'environnement photopériodique qui pourrait avoir atténué dans cette étude les effets du BPA.

Les études chez les rongeurs portant sur une exposition post-natale précoce indiquent également de façon assez consistante une avance de l'âge à l'ouverture vaginale pour une gamme de dose assez large pour des expositions par voie sous cutanées (50 µg/kg pc/j à 6 mg/kg pc/j) (Adewale *et al.*, 2009; Fernandez *et al.*, 2009).

De façon assez surprenante, les études s'intéressant à des expositions plus larges englobant la deuxième moitié de la gestation et une exposition post-natale jusqu'à la puberté chez le rat ne relèvent aucun effet du BPA sur l'âge à l'ouverture vaginale et/ou au premier œstrus (Kwon *et al.*, 2000; Ryan *et al.*, 2010a; Takagi *et al.*, 2004; Yoshida *et al.*, 2004). De même, une étude portant sur une exposition peripubertaire ne montre pas d'effet du BPA.

En résumé, une accélération du processus pubertaire chez la souris suite à une exposition *in utero* et/ou post-natale précoce peut être considérée comme un effet avéré. Cet effet ne serait pas exprimé lors d'exposition développementale étendue englobant une partie de la gestation et une période post-natale et péripubertaire. Toutefois, la plupart des études évaluées pour des expositions *in utero* comportent un écueil majeur : la non prise en compte du voisinage intra-utérin qui pourrait expliquer notamment une absence d'effet. Un tel biais n'est généralement pas attendu dans l'espèce humaine où les grossesses gémellaires avec des jumeaux de sexes opposés sont assez rares.

6.3.2.2 Exposition chez l'adulte

Dans l'ensemble les données issues d'une exposition exclusive de l'animal à l'âge adulte sont parcellaires et reposent sur de fortes doses sur des durées courtes, à l'exception des études portant sur l'implantation et la gestation.

L'exposition pendant l'implantation chez la souris CD1 par voie sous cutanée à dose forte (minimum 100 mg/kg pc/j, soit 20 fois le NOAEL) entraîne une diminution du nombre de sites

d'implantation (200 mg/kg pc/j), des remaniements histologiques de la paroi de la cavité utérine (hauteur des cellules), et une diminution de l'expression des récepteurs ER α et PR uniquement à la plus forte dose (300 mg/kg pc/j) (Berger *et al.*, 2010). Par voie orale, une dose de l'ordre de 2 g/kg pc/j est nécessaire pour observer un effet sur la gestation (Berger *et al.*, 2007). De même, une exposition au BPA à 10 mg/kg pc/j de GD0 à GD7 par voie sous-cutanée chez la souris ICR induit une diminution importante du nombre d'embryons à J10 et J12 associée à une diminution du poids de l'utérus et des altérations marquées de la structure placentaire (Tachibana *et al.*, 2007). Cependant, chez la souris C57BL6, le BPA à faibles doses dans l'alimentation (approximativement 0,1 à 10 mg/kg pc/j) pendant toute la gestation n'induit aucune modification des paramètres de la gestation (durée, taille de la portée, survie des jeunes,...) (Kobayashi *et al.*, 2010). Il est donc probable que ces faibles doses, pertinentes par rapport à l'exposition humaine, n'induisent pas de modifications suffisamment importantes de la paroi utérine pour avoir des répercussions fonctionnelles sur la gestation. Par ailleurs, le BPA administré à des rates du 7^{ème} jour à la fin de gestation par voie orale aux doses de 1 à 50 mg/kg pc/j n'induit pas de modification de la taille de la portée ou du poids des petits à la naissance (Zoeller *et al.*, 2005).

L'ovariectomie chez la rate induit des modifications de paramètres morphologiques utérins (test utérotrophique OECD TG440) et une augmentation de l'expression des récepteurs à l'œstradiol dans l'utérus. L'administration au BPA à des doses de 0,5 à 50 mg/kg pc/j pendant 5 jours par voie sous-cutanée à des rates Wistar ovariectomisées ne permet pas de rétablir ces paramètres utérins à un niveau similaire à celui des rates non castrées. De même, le BPA ne permet pas, contrairement à l'œstradiol, de supprimer l'augmentation de l'expression des récepteurs ER α et β induite par l'ovariectomie. En revanche, le 4-méthyl- 2, 4-bis(4-hydroxy-phényl)-pent-1-ène MBP, métabolite potentiel hépatique du BPA, permet d'annuler les effets de la castration sur le test utérotrophique et sur l'expression de récepteurs aux œstrogènes à l'instar de l'œstradiol (témoin positif) (Okuda *et al.*, 2010). Le potentiel oestrogénomimétique du BPA dans ce modèle apparaît assez modéré comparé à son métabolite potentiel MBP et à l'œstradiol.

Tableau VI : Tableau récapitulatif des études animales sur les effets du bisphénol A sur le système reproducteur femelle

Références	Espèces	Voies	Dose Période d'exposition	Effets NOAEL/LOAEL
(Mendoza-Rodríguez <i>et al.</i> , 2011)	Rat Wistar	Orale	10 mg/L dans eau de boisson, apport estimé à 1,2 mg/kg pc/j GD6 - PND21	F1 ↗ de l'épaisseur de l'épithélium et du stroma de l'utérus ↘ de l'apoptose de l'épithélium utérin troubles du cycle œstral ↘ de l'expression des récepteurs ER-α dans les cellules épithéliales de l'utérus pendant la phase œstrus
(Ryan <i>et al.</i> , 2010a)	Rat Long-Evans	Orale	2 - 20 ou 200 µg/kg pc/j GD7 - PND18	Aucun effet (poids de F0 et F1, caractères sexuels primaires, fertilité, fécondité, dimorphisme sexuel comportemental) suite à une exposition pré- et néonatale à de faibles doses de BPA Confirme les résultats des études multigénérationnels (Tyl <i>et al.</i> , 2002) (etc.)
(Adewale <i>et al.</i> , 2009)	Rat Long-Evans	Sous-cutanée	50 et 50 000 µg/kg pc/j PND0-PND3	F1 devenus adultes ↘ de l'âge à la puberté (avancement âge de l'ouverture vaginale, effet plus fort à plus faible dose) modification de morphologie ovarienne (apparition de kystes, ↘ nombre corps jaunes, follicules dégénérés) ↗ de la proportion d'animaux acycliques Pas de modification du comportement sexuel Pas de modification de l'expression de FOS dans les neurones à GnRH pour les 2 groupes de BPA
(Fernandez <i>et al.</i> , 2010)	Rat Sprague-Dawley	Sous-cutanée	5 (0,25 - 0,62 mg/kg), 50 (2,5 - 6,2 mg/kg), 500 µg/50µL (25 - 62,5 mg/kg) PND1 - 10	↗ testostérone sérique et niveau estradiol et ↘ progestérone à l'âge adulte et sécrétion de GnRH altéré <i>in vitro</i> <u>50 µg/50 µL</u> : fertilité réduite <u>500 µg/50µL</u> : morphologie anormale des ovaires présentant de nombreux kystes (morphologie semblable à celle observée dans le cas d'ovaires polykystiques chez la femme); femelles toutes stériles LOAEL=2,5 mg/kg
(Markey <i>et al.</i> , 2005)	Souris CD-1	Sous-cutanée	0,025 et 0,25 µg/kg pc/j GD9 - GD23	F1 <u>0,025 et 0,25 µg/kg pc/j</u> : Changements dans la morphologie ovarienne à 3 et 6 mois et altération de l'utérus et du vagin : ↘ poids sec du vagin, ↘ volume endomètre, ↗ expression des ERα et PR dans épithélium utérin, altération de la synthèse d'ADN dans l'épithélium utérin

				LOAEL = 25 ng/kg pc/j
(Rubin <i>et al.</i> , 2001)	Rat Sprague-Dawley	Orale	estimation de 0,1 mg/kg pc/j à 1,2 mg/kg pc/j (eau de boisson) GD6 - sevrage des petits	F0: Perturbation des cycles estriens (plus long que la normale) ↳ sécrétion de la LH en réponse à ovariectomie -> suggérant effet neuroendocrine F1 ↗ poids corporel (après la naissance et jusqu'à âge adulte) Altération cyclicité œstrogénique et ↳ de la LH à l'âge adulte après castration Pas de différence d'âge à la puberté ni de différence de distance anogénitale à la naissance
(Newbold <i>et al.</i> , 2007)	Souris CD-1	Sous-cutanée	10 - 100 - 1000 µg/kg pc/j PND1- PND5	- Pas de différence entre poids corporel des animaux traités et contrôles, quelle que soit la dose. Ovaires - Apparition de kystes ovariens, significatif uniquement à la dose de 100 µg/kg pc/j de BPA - Diminution de l'observation de corps jaune quand la dose augmente (NS) - Apparition de kystes para-ovariens d'origine mésonephrique (absence dans le groupe contrôle) NS - Apparition dans les groupes BPA de lésions progressives prolifératives (PPL) absentes dans le groupe contrôle (NS) Utérus - Augmentation de l'incidence des kystes hyperplasiques de l'endomètre, mais seule la dose de BPA100 entraîne un effet significatif - Tendance à l'augmentation aux plus hautes doses d'hyperplasies atypiques de l'endomètre précurseur d'adénocarcinome - Apparition (NS) de léiomyomes (absence dans groupe contrôle) - Polypes stromal supérieurs dans le groupe BPA100 - Incidence de Canaux élargis de Wolffian augmentée chez les souris traitées NOAEL : 10µg/kg LOAEL : 100µg/kg
(Newbold <i>et al.</i> , 2009)	Souris CD-1	Sous-cutanée	0,1 - 1 - 10 - 100 et 1000 µg BPA/kg pc/j	Ovaires : - Pas de différence pour le nombre de souris

			GD9 - GD16	<p>n'ayant pas de corps jaune</p> <ul style="list-style-type: none"> - Incidence significativement augmentée de kystes ovariens pour BPA-1 seulement - Présence de kystes proéminents paraovariens (pas de test statistique associé) à BPA-10 - Lésion néoplasique dans l'ovaire incluant cystadénome présents à BPA-10, 100 et 1000 (NS) - Lésion progressive proliférative observée dans tous les groupes traités mais pas les témoins (NS) <p>Utérus</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hyperplasie endométriale kystique (CEH) incidence augmentée pour tous les groupes sauf BPA-0,1 (même le contrôle) à NS - Adénomyosis : chez témoins, BPA-0,1 et BPA 10 - Hyperplasie adénomateuse avec CEH chez BPA-1, BPA-100 mais pas chez témoins (NS) - Hyperplasie atypique de l'utérus, considérée comme précurseur d'adénocarcinomes utérins, retrouvée chez BPA0,1 BPA1 et BPA1000, pas chez témoins (NS) - Restes de Wolffian dans l'utérus comparables à ceux vus dans l'ovaire et dans les trompes dans tous les groupes sauf BPA-100 - Polypes utéraux vus dans BPA 0,1, BPA1 et 10 (NS). Ce genre de lésion ont été rapportées comme étant associées au développement de sarcomes des cellules stromales chez les rongeurs <p>Vagin</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1 souris BPA-1000 avait un adenome vaginal caractérisé par des structures glandulaires à des localisations atypiques <p>Mort ou euthanasie prématurée</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1 souris BPA-1 avait un sarcome qui a envahit les organes reproducteurs, mais c'était sûrement un cancer d'origine hématopoïétique au vu de l'incidence globale des lésions - Il y a significativement plus de lésions dans le tractus génital pour BPA-0,1 que chez les témoins. - Il y a significativement plus de lésions (indépendamment de la localisation) pour BPA-0,1 et BPA-1 que pour les autres doses. <p>LOAEL_{est}=0,1 µg/kg pc/j</p>
(Nikaido <i>et al.</i> , 2005)	Souris CD-1	Sous-cutanée	10 mg/kg pc/j	Pas d'accélération du début de l'âge de la puberté

			PND15-PND19	<p>Pas de modification de l'utérus, ni du vagin, ni du développement mammaire</p> <p>Etat anovulatoire pour 80% des animaux traités avec du BPA <i>versus</i> groupe contrôle</p> <p>Pas d'alteration de la cyclicité ovarienne</p>
(Signorile <i>et al.</i> , 2010)	Souris Balb-C	Sous-cutanée	<p>100 et 1 000 µg/kg pc/j</p> <p>GD1 - PND7</p>	<p>Lésions type hyperplasie kystique et atypique de l'endomètre</p> <p><u>10 ou 1000 µg/kg pc/j chez F1 ♀ après 3 mois :</u></p> <p>↗ fréquence d'apparition des structures (glandes et stroma exprimant ER et Hoxa10) de type endométriose dans le tissu adipeux entourant le tractus génital.</p> <p>↗ fréquence hyperplasies endométriales, ovaires kystiques et hyperplasie endométriale significativement plus fréquents chez F1 ♀</p> <p>BPA (libre) dans foie de toutes F0 ♀ traitées et F1 (pas relation dose-dep) sans corrélation avec survenue d'une pathologie semblable à l'endométriose</p> <p>LOAEL = 100 µg/kg pc/j</p>
(Cabaton <i>et al.</i> , 2010)	Souris CD-1	Orale	<p>25 ng, 250 ng ou 25 µg/kg pc/j</p> <p>GD8 - PND16</p>	<p>↘ de la fertilité et de la fécondité (↘ du nombre de gestations sur une période de 32 semaines, du nombre de petits par mise bas et du nombre total de petits nés sur les 32 semaines d'étude)</p> <p>LOAEL = 25 ng/kg pc/j</p>
(Evans <i>et al.</i> , 2004)	Brebis	Intra-musculaire	<p>3,5 mg/kg 2 fois par semaine</p> <p>brebis âgées de 4 semaines traitées pendant 5 semaines</p>	<p>↘ de la fréquence et de l'amplitude de la pulsativité de la LH après ovariectomie</p> <p>Pas de modification du poids des ovaires</p>
(Navarro <i>et al.</i> , 2009)	Rat Wistar	Sous-cutanée	<p>100 - 500 µg/animal</p> <p>PND1 - 5</p>	<p>Suppression des niveaux d'ARN messagers de KiSS-1 dans l'hypothalamus pouvant entraîner une altération du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire et de la sécrétion des hormones gonadotropes</p>
(Savabieasfahani <i>et al.</i> , 2006)	Brebis	Intra-musculaire	<p>5 mg/kg pc/j</p> <p>GD30 - GD90</p>	<p>Hypersécrétion de LH en période prépubère</p> <p>Modification du pic préovulatoire de LH</p>
(Mahoney et Padmanabhan, 2010)	Mouton	Sous-cutanée	<p>5 mg/kg pc/j</p> <p>G30-G90</p>	<p>↗ de l'expression de ESR1 et ↘ de l'expression de ESR2</p> <p>↗ de l'expression de gonadolibérine</p>
(Collet <i>et al.</i> , 2010)	Brebis	Intra-veineuse	<p>5 - 10 - 20 - 40, and 80 mg/(kg pc d)</p> <p>brebis adultes traitées pendant 4 jours</p>	<p>Effets sur le système générateur de pulse de LH qualitativement similaires aux effets du 17β-oestradiol (contrôle positif).</p>
(Berger <i>et al.</i> ,	Souris	Sous-	100 - 200 -	↘ des sites d'implantation

2010)	CF-1	cutanée	300 mg/kg pc/j GD1 - GD4	Remaniements histologiques de la paroi de la cavité utérine Diminution de l'expression des récepteurs Era et PR
(Berger <i>et al.</i> , 2007)	Souris CF-1	Orale	Administration du BPA par ajout dans du beurre de cacahuète à hauteur de 0,11 – 9% ou par ajout dans la nourriture à hauteur de 3 et 6%. GD1- GD5	Pas de modification de la taille des portées et du taux de parturition La dose de 68,84 mg de BPA/j/animal (correspondant à une supplémentation en BPA à hauteur de 6%) entraîne un avortement de toutes les gestations
		Sous-cutanée	0,0005 - 0,0015 - 0,0046 - 0,0143 - 0,0416 - 0,125 - 0,375 - 1,125 - 3,375, et 10,125 mg/animal/j GD1- GD4	↳ de la taille des portées à 3,375 mg/j ↳ de la proportion des femelles à être parturiente à 10,125 mg/j ↳ du nombre de sites d'implantation à la dose 10,125 mg/j
(Tachibana <i>et al.</i> , 2007)	Souris ICR	Sous-cutanée	10mg/kg pc/j GD0 - GD7	↳ du nombre d'embryon ↳ du poids de l'utérus et altérations marquées de la structure placentaire
(Kobayashi <i>et al.</i> , 2010)	Souris C57BL/6 J	Orale	0,05 - 0,5 ou 5 mg/kg pc/j GD6 - PND22	Aucune modification du poids corporel, du gain de poids corporel, de la consommation de nourriture, de la durée de la gestation, de la taille de la portée, de la survie des jeunes chez les F0 Pas de différence entre le sex ratio et la viabilité chez les F1 Aucune modification du poids corporel, de la consommation de nourriture, des paramètres développementaux, de la distance anogénitale, et du poids des organes (foie, rein, coeur, rate, thymus, testicule, ovaires et utérus) chez les F1 et F2 adultes. Pas de modification du nombre ni de la motilité spermatique chez les F1 et F2
(Munoz del Toro <i>et al.</i> , 2005)	Souris CD-1	Sous-cutanée	25 - 250 ng/kg pc/j GD9 -PND4	- Pas de modification sur le nombre, la taille et l'aire des TEB - Augmentation de la sensibilité de la glande mammaire à l'estrogène - Diminution du nombre de cellules en apoptose dans les TEB à partir de 25ng/kg pc/j - Pas d'effet prolifératif - Pas d'augmentation des récepteurs ER α mais augmentation des récepteurs à la progestérone - Augmentation significative du branchement latéral des glandes mammaires à 25 ng/kg

(Nikaïdo <i>et al.</i> , 2004)	Souris CD-1	Sous-cutanée	0,5 et 10 mg/kg pc/j GD15-GD18	Accélération du gain de poids chez les F1 femelles Précocité de l'ouverture vaginale. Augmentation de la durée du cycle oestrogénique Anomalies du tractus génital (acyclicité, hyperplasie) Accélération de la différenciation de la glande mammaire
(Patisaul <i>et al.</i> , 2009)	Rat Long Evans	Sous-cutanée	50 µg/kg pc/j et 50 mg/kg pc/j PND1-PND5	Pas de modification dans l'immunoréactivité à KISS dans le noyau antérieur ventral périventriculaire, diminution dans le noyau ARC chez les femelles Pas de modification chez les mâles

Tableau VII : Tableau récapitulatif des études animales sur les effets sur l'ouverture vaginale, sur l'âge au premier oestrus du bisphénol A

Période d'exposition	Références	Espèces	Voies	Période d'exposition	Dose d'exposition	Effet évalué sur l'ouverture vaginale et l'âge au premier oestrus
Gestation	(Howdeshell <i>et al.</i> , 1999)	Souris CF-1	Orale gavage	GD11-GD17	BPA : 2,4 µg/kg pc/j	<u>Ouverture vaginale</u> : pas d'effet <u>Intervalle entre l'ouverture vaginale et l'âge au premier oestrus</u> : diminué de 2~4j
	(Nikaido <i>et al.</i> , 2004)	Souris CD-1	Sous-cutanée	GD15-GD19	BPA: 0,5 ou 10 mg/kg pc/j DES: 0,5 ou 10 µg/kg pc/j	<u>Ouverture vaginale</u> : BPA 0,5 mg/kg pc/j : pas d'effet BPA 10 mg/kg pc/j : avance de 1,2 j DES : avance 1,5 et 1,9 j aux doses de 0,5 et 10 µg/kg pc/j respectivement
	(Honma <i>et al.</i> , 2002)	Souris ICR Jcl	Sous-cutanée	GD11-GD17	BPA: 2 ou 20 µg/kg DES: 0,02 - 0,2 ou 2 µg/kg	<u>Ouverture vaginale et âge au premier oestrus</u> : BPA 20 µg/kg: avance (~1j) DES : avance 1,5 j minimum
	(Savabieasfahani <i>et al.</i> , 2006)	Ovin	Sous-cutanée	GD30-GD90 (2/5 ^{ème} de gestation)	BPA : 5 mg/kg	Pas d'effet : sur l'âge au premier cycle oestral déterminé par le niveau de progestérone
Deuxième moitié de gestation et post-natale	(Yoshida <i>et al.</i> , 2004)	Rat Donryu	Orale gavage	GD2-PND21	BPA : 6 µg/kg pc/j 6 mg/kg pc/j	<u>Ouverture vaginale</u> Pas d'effet du BPA
	(Takagi <i>et al.</i> , 2004)	Rat Sprague-Dawley	Orale Alimentation	GD15-PND10	BPA alim : 60-600 -3000 ppm soit de ~7 - 300mg/kg pc/j EthinyI E2 0,5 ppm	<u>Ouverture vaginale</u> Pas d'effet du BPA

	(Kwon <i>et al.</i> , 2000)	Rat Sprague-Dawley	Orale gavage	GD11-PND20	BPA : 3,2-32-320 mg/kg pc/j DES 15 µg/kg pc/j	<u>Ouverture vaginale et âge premier oestrus</u> Pas d'effet du BPA ni du DES
	(Ryan <i>et al.</i> , 2010a)	Rat	Orale gavage	GD7-PND18	EE2 : 0,05 – 0,5 – 1,5 – 5 – 15 – 50 µg/kg pc/j BPA : 2 – 20 – 200 µg/kg pc/j	<u>Ouverture vaginale</u> EE2 à la dose de 5 µg/kg entraîne une avance de 4j de l'ouverture vaginale. BPA n'entraîne pas d'effet.
Post-natale précoce	(Adewale <i>et al.</i> , 2009)	Rat	Sous-cutanée	PND0-PND3	EB* : 25 µg BPA : 50µg/kg BPA : 50mg/kg PPT : 1 mg/kg	<u>Ouverture vaginale :</u> EB : Avance 4j BPA : 50 µg/kg : Avance 2j BPA : 50 mg/kg : NS PPT 1 mg/kg : Avance 1j
	(Fernandez <i>et al.</i> , 2009)	Rat Sprague-Dawley	Sous-cutanée Huile ricin	PND1-PND10	1 ^{ère} dose testée de BPA : 2,5 – 6,2 mg/kg pc 2 ^{ème} dose testée de BPA : 25 à 62,5 mg/kg pc	<u>Ouverture vaginale :</u> 2,5 j avance 4,8 j avance
Post-natale	(Nikaido <i>et al.</i> , 2005)	Souris CD-1	Sous-cutanée	PND15-19 prépubertaire	BPA:10 mg/kg pc/j DES:10 µg/kg pc/j	<u>Ouverture Vaginale</u> pas d'effet avec le BPA 10 mg/kg pc/j DES 10µg/kg pc/j : avance

6.3.2.3 Transposition à l'Homme : éléments d'interprétation

De nombreuses zones d'ombre persistent dans la physiopathologie et l'étiologie précises du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) chez la femme. Les déséquilibres hormonaux associés à cette pathologie sont assez bien décrits et recourent en de nombreux points les modifications hormonales décrites chez le rat suite à une exposition développementale au BPA associée à l'augmentation de l'incidence d'ovaires polykystiques (Fernandez *et al.*, 2010). Ces modifications hormonales sont cohérentes avec un tableau clinique endocrinien évocateur de SOPK ce qui tendrait à suggérer que de ce point de vue le rongeur pourrait se révéler pertinent pour évaluer le risque de développement de SOPK chez la femme.

L'hyperplasie endométriale est clairement identifiée à la fois chez la femme et chez l'animal comme résultant d'une hyperestrogénie. Toutefois, ce schéma physiopathologique est basé essentiellement sur un effet contemporain du déséquilibre hormonal et est réversible. Les études concernant les effets du DES *in utero* démontrent qu'une sur-imprégnation développementale est également une cause favorisant l'hyperplasie et /ou les cancers utérins chez les rongeurs à l'âge adulte, étayant ainsi les observations épidémiologiques chez l'être humain. Ceci tendrait à suggérer que, du moins pour des pathologies utérines à « composante » œstrogénique, le rongeur pourrait permettre, dans une certaine mesure, de prédire les effets délétères potentiels de l'exposition développementale aux PE sur l'utérus.

Chez la femme, c'est essentiellement l'hyperplasie atypique de l'endomètre qui est considérée comme une lésion précancéreuse. En effet, moins de 2% des hyperplasies glandulaires sans atypie évoluent vers un adénocarcinome alors qu'environ 30% des hyperplasies atypiques évoluent vers un cancer invasif. Tous les adénocarcinomes ne sont pas précédés d'une hyperplasie glandulaire avec atypie. L'obésité (qui est associée à une hyperestrogénie via l'aromatisation accrue de l'androstènedione en estrone, dans le tissu adipeux) est un facteur de risque notable.

Au bilan, pour les deux pathologies du tractus génital femelle les plus fréquemment décrites et « avérées » chez les rongeurs dans le contexte d'exposition développementale au BPA (ovaires polykystiques et hyperplasie endométriale), les rongeurs semblent être des modèles pertinents en matière d'analyse du risque pour la santé humaine.

En ce qui concerne l'endométriose, deux principales hypothèses prévalent à l'heure actuelle pour le schéma physiopathologique du développement de cette pathologie : différenciation de cellules mésothéliales péritonéales totipotentes en cellules endométriales en lien avec un environnement hormonal particulier et/ou une autogreffe de cellules endométriales hors de l'utérus à partir d'un flux menstruel rétrograde (Robboy et Bean, 2010). Dans le premier cas de figure, il est envisageable que de tels mécanismes puissent s'exprimer chez les rongeurs et l'étude de Signorile serait en ce sens recevable dans le cadre de l'analyse du risque pour la santé humaine. En revanche dans le deuxième cas de figure, l'absence de menstruation chez le rongeur, comme dans la plupart des espèces animales, invalide ce modèle pour sa pertinence par rapport à l'Homme. Les modèles expérimentaux les mieux adaptés pour étudier l'endométriose chez la femme semblent plutôt être le modèle primates (babouins, macaque Rhésus,...) car ils font spontanément des endométrioses, mais les données sont limitées et parfois peu probantes.

6.3.3 Modèles tissulaires/cellulaires d'origine humaine

Différents modèles cellulaires issus de cellules humaines ont été développés et utilisés afin d'évaluer des effets directs du BPA sur des cellules endométriales et/ou des cellules ovariennes. Cette approche peut être intéressante sous deux points de vue :

- l'endomètre et l'ovaire sont des cibles des œstrogènes et le type de réponses induites dans ces tissus par les œstrogènes est bien documenté ;
- les cultures cellulaires se prêtent particulièrement bien aux approches de type dose réponse permettant d'établir la puissance et l'efficacité relatives du BPA par rapport aux stéroïdes endogènes.

Les travaux réalisés sur diverses lignées cellulaires proposent des mécanismes d'actions autres que de type œstrogéniques.

Cependant la portée de ces résultats ne peut être que très limitée du point de vue de l'analyse du risque car les doses auxquelles les cellules sont généralement exposées sont très largement supérieures aux concentrations mesurées *in vivo* (10-20 ng/mL pour les plus fortes valeurs soit 0,04 à 0,08 µM). Ces résultats doivent donc être interprétés comme des tests de « précriblage » du potentiel oestrogénomimétique du BPA sur ce type de tissu. Il convient de souligner les limites inhérentes à ce type d'approche : premièrement, le métabolisme du toxique par les cellules ne conduit pas nécessairement au même schéma d'exposition qu'*in vivo* ; ensuite, il s'agit le plus souvent de lignées cancéreuses, donc présentant des schémas de régulation probablement modifiés par rapport à des cellules endométriales normales.

Sur des cellules Ishikawa qui sont des cellules endométriales issues d'adénocarcinome, le BPA induit l'expression du récepteur à la progestérone mais est approximativement 10000 fois moins puissant que l'œstradiol (Schaefer *et al.*, 2010). Un criblage génomique sur ces cellules indique qu'il existe un cluster de gènes modifiés de façon qualitativement similaire par l'œstradiol (1 µM) et le BPA (100 µM ~ 20 µg/mL), un sous groupe de ce cluster est également modifié *in vivo* dans l'utérus de rates prépubères exposées à de faibles doses de BPA (10 µg/kg) (Naciff *et al.*, 2010).

Bredhult *et al.* ont exposé à forte dose de BPA (50 µM ; 11 µg/mL) une culture primaire de cellules endothéliales de l'endomètre provenant de donneuses ne présentant pas de pathologie endométriale et/ou de perturbation du cycle menstruel (Bredhult *et al.*, 2009). Cette étude met en évidence la régulation de voies de signalisation du cycle cellulaire probablement associée à une mort cellulaire accrue.

Le BPA (0,1 à 1 µM) inhibe l'expression de gènes d'enzymes clés de la production de stéroïdes par des cellules de granulosa en culture primaire (P450aromatase et P450scc) sans pour autant induire de diminution des concentrations en stéroïdes dans les milieux de culture (Jiang *et al.*,

2007). A 40 μ M, il inhibe la réponse de cellules de la granulosa (lignées KGN et cellules lutéinisantes en culture primaire, expression des gènes de l'IgF1 et de l'aromatase CYP19) à la FSH, conjointement à une diminution de la production d'œstradiol induite par la FSH (Kwintkiewicz *et al.*, 2010).

Des explants placentaires (premier trimestre) soumis à de faibles concentrations de BPA (1 nM) répondent par une augmentation de la sécrétion de β -HCG et une activation de voies pro-apoptotiques (Morck *et al.*, 2010). Ces résultats suggèrent que le BPA pourrait modifier la séquence de différenciation du tissu placentaire et notamment du syncytiotrophoblaste, ce qui pourrait être préjudiciable au bon fonctionnement du placenta. L'effet au niveau moléculaire est convaincant mais la signification fonctionnelle de ces modifications n'est pas discutée.

Une étude réalisée sur cytotrophoblastes humains en culture montre dans les conditions expérimentales (24h d'exposition sur un dispositif non contrôlé), des effets du BPA à très faible dose (dès 0,2 ng/mL en concentrations nominales dans le milieu de culture) sur la cytotoxicité et apoptose (Benachour et Aris, 2009). Cependant, ces résultats sont à analyser avec précaution : il n'y a aucune caractérisation de l'exposition des placentas donneurs au moment de la collecte ; il n'est pas précisé si le dispositif de culture ne contient pas de BPA et surtout si le BPA n'interfère pas avec les méthodes analytiques.

Bien que ces études montrent un certain potentiel du BPA à modifier les fonctions de stéroïdogénèse de cellules ovariennes et/ou la physiologie de cellules endométriales. Les doses utilisées sont trop importantes pour que ces données soient un appui des données épidémiologiques chez la femme. Les données sur cellules placentaires sont cohérentes et mettent en évidence des effets exprimés à faibles doses nominales du même ordre de grandeur que les concentrations plasmatiques reportées chez la femme enceinte. Cependant, ces études restent trop imprécises du point de vue méthodologique et manquent notamment de contrôles sur les doses et les biais éventuels liés aux conditions expérimentales pour être conclusives.

6.3.4 Conclusion

Le nombre d'études épidémiologiques examinant un lien entre une exposition au BPA et des effets sur la reproduction chez la femme sont relativement peu nombreuses. Ces études présentent des limites méthodologiques (taille de la population étudiée, sélection des participants, analyses statistiques,...) les rendant difficilement interprétables. Des corrélations dans des populations (avec de nombreux facteurs de confusions possibles) ne sauraient être convaincantes que sur la base d'un très grand nombre d'individus et ce, quelle que soit l'approche statistique mise en place pour analyser ces données. Les données humaines sont donc à considérer avec la plus grande circonspection et ne sont en rien conclusives d'un effet du BPA sur les paramètres étudiés. Les experts émettent ainsi des réserves sur l'ensemble des études épidémiologiques et considèrent, qu'en l'état actuel des connaissances, **les données humaines relatives aux effets du BPA sur**

l'endomètre (endomètre, hyperplasie), les ovaires polykystiques et l'issue de la grossesse (fausse-couches et prématurité) ne permettent pas de conclure chez la femme.

L'effet du BPA sur la maturation ovocytaire chez la femme, dans un contexte de procréation médicalement assistée, est suspecté sur la base d'une étude de bonne qualité (Mok-Lin *et al.*, 2010) et d'une autre présentant des limites méthodologiques non majeures (Fujimoto *et al.*, 2011).

Chez l'animal, sur la base de la convergence de résultats de différentes études réalisées dans différentes conditions et sur différents modèles, **les effets suivants peuvent être considérés comme « avérés chez l'animal »** dans des protocoles d'exposition au cours du développement (exposition pré et post-natale) :

- **Augmentation de la survenue de kystes ovariens,**
- **Modifications hyperplasiques de l'endomètre**
- **Avancement de l'âge à la puberté lors d'exposition pré et post-natales précoces.**

Les effets sur l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadotrope due à une exposition *in utero* ou à une exposition post-natale précoce entraînant des variations des taux d'hormones sexuelles, et la modification de l'expression des récepteurs des hormones sexuelles ont été retrouvés dans plusieurs études. Ces effets sont avérés chez l'animal.

Chez l'animal, les effets potentiels d'une exposition chez l'adulte sont observés pour des doses bien supérieures au NOAEL retenue par l'EFSA (par exemple, nombre de sites d'implantation, remaniement histologique de la paroi utérine, morphologie du tractus génital,...).

- **Les effets « avérés chez l'animal » sont des effets à retenir pour l'évaluation des risques sanitaires.**

6.4 Effets sur le cerveau et le comportement

Selon le FAO/OMS, chez l'Homme, une étude de cohorte prospective (Braun *et al.*, 2009) montre des modifications du comportement (agressivité, hyperactivité) chez des filles ; cette association était d'autant plus forte lorsque les concentrations urinaires de BPA en début de grossesse étaient élevées chez les mères. Ce panel d'experts considère comme une priorité la conduite d'une étude prospective sur une large cohorte associée à plusieurs mesures urinaires, en particulier en début de grossesse (FAO/OMS, 2010). Une nouvelle étude de Braun *et al.* confirmant ces résultats serait, selon les conclusions de ce panel, en cours de publication. Cette étude montrerait également une association positive entre les concentrations de BPA urinaires mesurées chez les mères pendant la grossesse et l'anxiété observés chez les enfants, ce qui est également rapporté chez l'animal.

Chez l'animal, selon le panel d'experts réuni à Chapel Hill en 2007 (Richter *et al.*, 2007), une exposition à des faibles doses de BPA pendant la période critique du développement peut entraîner des effets persistants sur la structure et la fonction cérébrales, ainsi que sur le comportement chez les rats et les souris, en lien avec :

- Une augmentation des récepteurs ER α et β dans diverses structures du cerveau en réponse à une exposition développementale (Ramos *et al.*, 2003 ; Khurana *et al.*, 2000 ; Ceccarelli *et al.*, 2007 ; Kawai *et al.*, 2007),
- Une altération de l'axe hypothalamo-pituitaire-thyroïde (Zoeller *et al.*, 2005),
- Des effets sur les voies de signalisation cellulaire,
- Des effets sur la structure cérébrale.

Chez l'adulte, l'apparition de tels effets semblent nécessiter une exposition à de plus fortes doses de BPA et pendant une période plus longue.

Selon l'ECB (CE, 2010b), plus de 30 études, dont 3 par voie sous-cutanée, ont ainsi évalué la neurotoxicité chez l'animal (activité locomotrice et exploratoire, comportement sexuel, cognitif, émotionnel, social, maternel, expression de gènes et récepteurs et immunotoxicité...) mais leurs protocoles présentent des limites (faible nombre d'animaux, analyse statistique inappropriée, résultats et méthodes brièvement rapportés, une seule dose...). Ceci conduit à un niveau de confiance limité quant à la fiabilité des résultats et à un manque de cohérence des effets observés.

Le NTP-CERHR exprime également des inquiétudes pour l'Homme (« some concern for adverse effects ») quant aux effets du BPA sur le développement cérébral et le comportement (NTP-CERHR, 2008). Selon la (FDA, 2008), certaines études suggèrent qu'une exposition au BPA

pendant le développement pourrait, chez les rongeurs, altérer le développement du cerveau et entraîner les effets suivants :

- effets possibles sur le développement du cerveau et sur la différenciation sexuelle,
- altération de la fonction endocrine chez les descendants : diminution de la testostérone chez les mâles, altération des niveaux de thyroxine et de gènes répondant à la thyroxine, des niveaux de récepteurs rétinoïdes et de co-activateur de récepteurs aux hormones thyroïdiennes,
- modulation du développement de la voie neurale monoaminergique suite à une exposition pendant le développement, suggérée par des modifications significatives des comportements chez les descendants adultes.

Selon l'OEHHA, ces effets, notamment ceux en lien avec des modifications du comportement maternel, sont compatibles avec le potentiel œstrogénique du BPA ; l'analyse statistique des données est appropriée et les doses seraient compatibles avec celles rencontrées en exposition humaine (de l'ordre du µg/kg). Les modes d'action évoqués pour expliquer la toxicité sur le développement passent par une régulation de l'expression des gènes au niveau embryonnaire, une action au niveau des récepteurs membranaires aux œstrogènes et une modulation des systèmes de second messenger (OEHHA, 2009).

Ces effets aux faibles doses restent cependant controversés (NTP-CERHR, 2008; OEHHA, 2009) en raison :

- du manque de répétabilité des études,
- d'interrogations quant à la pertinence des protocoles suivis: une étude complète de la neurotoxicité développementale du BPA n'a pas été conduite alors que des protocoles de routine sont disponibles,
- de la pertinence du modèle animal et de son extrapolation à l'Homme : les liens entre une exposition du BPA et des syndromes neurologiques ou neurodégénératifs ou le comportement chez l'enfant n'ont pas été explorés,
- de l'absence de consensus sur le caractère néfaste des effets rapportés : par exemple un effet observé chez des fœtus, des nouveau-nés ou des animaux prépubères, n'a en général pas fait l'objet d'investigation chez l'animal adulte pour s'assurer ou non de sa réversibilité ou de son éventuelle gravité.

L'Afssa dans son avis du 29 janvier 2010 et l'annexe associée (mai 2010) a analysé plusieurs études relatives aux effets neurotoxiques du BPA (Palanza *et al.*, 2008 ; Nakagami *et al.*, 2009 ; Stump *et al.*, 2009 ; Braun *et al.*, 2009 ; Monje *et al.*, 2009 ; Ryan *et al.*, 2010) et a considéré que certaines de ces publications, notamment Nakagami *et al.* (2009) et Palanza *et al.* (2008) font état

de signaux d'alerte après une exposition *in utero* et post-natale à des doses inférieures à celle sur laquelle se fonde la DJT (Afssa, 2010b; Afssa, 2010a). Les effets rapportés concernent, d'une part une féminisation dans le comportement des petits mâles et, d'autre part, une modification du comportement exploratoire et de l'anxiété. D'autres études, en revanche n'ont pas été jugées préoccupantes (Braun *et al.*, 2009, Monje *et al.*, 2009). Les études de Stump et Ryan ne montraient pas d'effet aux doses inférieures à 5 mg/kg pc/j.

L'EFSA considère que les données actuellement disponibles ne constituent pas des preuves convaincantes d'un effet du BPA sur le comportement aux doses inférieures à 5 mg/kg pc/j (EFSA, 2010).

Enfin, le panel d'experts réunis en 2010 sous l'égide de la FAO/OMS considère qu'une exposition au BPA pendant le développement ne semble pas affecter les organes sensoriels, le comportement spontané ou sexuel femelle chez l'animal de laboratoire (FAO/OMS, 2010). Les données expérimentales disponibles ne sont pas en faveur d'atteintes neuropathologiques cérébrales consécutives à une exposition par voie orale pendant la gestation, à des doses inférieures à 164 mg/kg pc/j (Stump *et al.*, 2010). Des modifications biochimiques (systèmes monoaminergique, cholinergique, glutamatergique...), morphométriques et cellulaires, au sein de régions anatomiques impliquées dans le dimorphisme sexuel et au niveau de certaines cibles neuroendocrines, ont été rapportées après des expositions pendant la gestation par voie orale à des doses inférieures à 5 mg/kg pc/j. Cependant, des limites dans la méthodologie de ces études et l'absence de traduction fonctionnelle des effets observés rendent leur interprétation difficile. Sur la base des données disponibles, les effets en lien avec l'anxiété et les différences sexuelles, mâle et femelle, au niveau cérébral sont considérés par ce panel comme des effets critiques potentiellement pertinents chez l'Homme, mais des études supplémentaires sont nécessaires pour réduire ces incertitudes.

Des données chez les rongeurs et le mouton suggèrent des effets sur l'organisation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique chez la femelle (> 50 µg/kg pc/j pour des expositions non orale) et sur son activité (> 5 mg/kg pc/j pour des expositions non orale).

Les experts de ce panel recommandent la conduite d'études en vue d'examiner les effets spécifiques en lien avec le comportement de stress après une exposition pendant la grossesse :

- en mettant en œuvre différents protocoles d'études avec plusieurs doses et sur les 2 sexes,
- en testant plusieurs âges,
- en examinant l'impact fonctionnel des modifications sur la différenciation sexuelle au niveau cérébral,

- en conduisant des analyses dose-réponse sur les modifications anatomiques en lien avec la différenciation sexuelle au niveau cérébral.

6.4.1 Données humaines

Les travaux de Braun *et al.* font état d'un suivi épidémiologique sur des mères exposées au BPA et leurs enfants à l'âge de 2 ans (Braun *et al.*, 2009). L'exposition au BPA est déterminée sur la base d'analyses de résidus dans les urines des mères à environ 16 et 26 semaines de grossesse et à la naissance des enfants. L'exposition prénatale au BPA est associée à des comportements externalisés, spécialement chez les filles (hyperactivité, agressions multipliées). Ces comportements sont normalement dominants chez les garçons et pourraient aussi être interprétés par une augmentation de l'état d'anxiété chez les filles, voire chez les garçons mais, dans ce dernier cas, ils pourraient être confondus avec les comportements chez les garçons liés au dimorphisme sexuel comportemental. Sur cette étude, Longnecker émet quelques réserves concernant la différence absolue des scores observés pour les comportements externalisés associés au BPA qui ne peuvent pas être déterminés sur la base des données standardisées avec le sexe présentées dans l'étude de Braun *et al.* (Braun *et al.*, 2009; Longnecker 2009). Ainsi, il n'est pas possible de comparer l'importance de l'association avec le BPA chez les filles avec celle liée à la différence entre les filles et les garçons. De ce fait, il est impossible de dire si les filles ont développé un comportement masculin ou si elles se comportent comme l'auraient fait des filles. Il convient de mentionner également qu'en raison des limites méthodologiques soulevées par l'Afssa dans son expertise de 2010 les conclusions de l'étude de Braun *et al.* n'avaient pas été retenues (Afssa, 2010a). Par ailleurs, l'Afssa faisait remarquer que les auteurs concluent à un effet du BPA sur le comportement en se basant sur des valeurs de scores comprises dans la norme des variations individuelles. Ainsi, le score moyen le plus élevé était de 53,9 (écart-type de 1,3) alors que le score est normalisé pour la population américaine à une valeur de 50 avec un écart-type de 10. Cependant, il est à noter que les experts du FAO/OMS considèrent comme prioritaire la reproduction de cette étude sur une large cohorte associée à plusieurs mesures urinaires, en particulier en début de grossesse (FAO/OMS, 2010).

Miodovnik *et al.* ont étudié la corrélation entre les taux urinaires de BPA et de phtalates analysés durant la grossesse et la sociabilité des enfants citadins multi-ethnies âgés de 7 à 9 ans, chez 137 enfants (Miodovnik *et al.*, 2011). La sociabilité a été évaluée au moyen d'une échelle de réponse sociale (« Social Responsiveness Scale », SRS) comprenant 65 items. Les concentrations urinaires des métabolites de phtalates de bas poids moléculaires sont associées à des déficits sociaux plus élevés avec, une cognition, une communication et une attention sociales moindres. En revanche, aucune association significative n'a été retrouvée entre les taux urinaires et des troubles sociaux pour le BPA. Le BPA était corrélé positivement avec la sévérité des troubles sociaux (« Social Responsiveness Scale »), mais cette relation était non statistiquement significative.

6.4.2 Données chez l'animal

6.4.2.1 Exposition prénatale et périnatale

6.4.2.1.1 Effets sur le comportement

6.4.2.1.1.1 Effets sur le comportement exploratoire

Des modifications du comportement maternel, exploratoire et émotionnel ont été rapportées après exposition *in utero*. Les résultats obtenus par Poimenova *et al.* montrent que le BPA modifie le comportement des femelles F1 nées de mères exposées par voie orale au BPA à 40 µg/kg pc/j dans l'alimentation durant la gestation et la lactation (Poimenova *et al.*, 2010). Les femelles F1 présentaient une forte diminution du comportement exploratoire et une détérioration de la mémoire spatiale, mais cette étude présente des limites méthodologiques (nombre d'animaux très faible, une seule dose, nombre d'animaux pas toujours précisé dans chaque essai,...) (Tableau VIII). L'étude de neurotoxicité développementale de Stump *et al.*, réalisée selon la ligne directrice 426 de l'OCDE (tests, examens histopathologiques,...) et conformément aux BPL (Bonnes Pratiques de Laboratoire), établit un NOAEL pour les effets de neurotoxicité du développement à la plus forte dose testée de 2250 ppm (164 mg/kg pc/j pour la gestation et 410 mg/kg pc/j pour la lactation) (Stump *et al.*, 2010). Aucun effet sur le comportement exploratoire des petits n'a été mis en évidence.

6.4.2.1.1.2 Effets sur l'anxiété

Des effets comportementaux sont observés chez la souris par Cox *et al.*, sur des individus F1 issus de mères exposées durant la gestation (de E9 à fin de gestation) à des doses de 50 mg/kg de BPA administré dans la nourriture correspondant à 8 mg/kg pc/j (Cox *et al.*, 2010). Dans cette étude, les jeunes sont sevrés, soit avec leur mère biologique, soit avec des nourrices. Les résultats montrent une nette augmentation de l'anxiété chez les jeunes issus de mères exposées au BPA. D'une manière générale, le type de mère assurant le sevrage (mère biologique *versus* nourrice) modifie les effets du BPA. Toutefois, pour que les études de Cox *et al.* puissent être parfaitement interprétées, il aurait fallu conduire deux modalités supplémentaires : (i) des nouveau-nés provenant de mères contrôles et nourris par des nourrices exposées au BPA et (ii) des nouveau-nés provenant de mères exposées au BPA et nourris par des nourrices exposées au BPA. Cependant, ces résultats sont à rapprocher de ceux de Poimenova *et al.* qui montrent aussi que le BPA altère le comportement d'adaptation face au stress d'une manière sexe dépendante chez des rats F1 nés de mère exposées au BPA à 40 µg/kg pc/j durant la gestation et la lactation (Poimenova *et al.*, 2010). Ainsi, par rapport aux mâles, les femelles F1 exposées au BPA présentaient une augmentation de l'anxiété et une forte diminution du comportement exploratoire.

Dans les travaux de Tian *et al.* mettant en œuvre des doses de BPA de 100 et 500 µg/kg pc/j chez la souris, en exposition prénatale et post-natale (de GD7 à PND36), l'effet du BPA est plutôt d'ordre anxiolytique (à 100 µg/kg pc/j, contrairement à l'effet anxiogène rapporté par Cox *et al.* à la dose de 8 mg/kg pc/j (Cox *et al.*, 2010; Tian *et al.*, 2010). La question reste posée de savoir si une différence de doses d'un facteur 80 peut expliquer des effets différentiels anxiogènes/anxiolytiques du BPA. De plus, les études de Tian *et al.* sont à considérer avec prudence car les groupes expérimentaux d'individus ne comprenaient que deux mères (Tian *et al.*, 2010).

6.4.2.1.1.3 Effets sur le dimorphisme sexuel comportemental

L'exposition au BPA entraînerait une réduction, voire une perte de ce dimorphisme :

- au niveau du locus ceruleus (Funabashi *et al.*, 2004; Kubo *et al.*, 2001; Kubo *et al.*, 2003);
- au niveau du noyau antéroventral périventriculaire mais de façon inconstante (Patisaul *et al.*, 2006; Patisaul *et al.*, 2007; Rubin *et al.*, 2006).

Les doses d'exposition *in utero* ou périnatale les plus faibles ayant montré de tels effets sont de 0,03 mg/kg pc/j par voie orale (Kubo *et al.*, 2003), 0,000025 ou 0,000250 mg/kg pc/j par perfusion sous-cutanée (Rubin *et al.*, 2006) et 100 mg/kg pc/j par injection sous-cutanée (Patisaul *et al.*, 2006).

En 2009, Nakagami *et al.* ont effectué une étude portant sur les effets d'une exposition prénatale au BPA chez le singe en analysant le comportement enfant-mère chez des singes macaques (*Macaca fascicularis*) F1 sur la descendance F1 (Nakagami *et al.*, 2009). Le comportement des descendants mâles et femelles a été étudié durant la période précoce de lactation. L'analyse comportementale, chez le jeune, a porté sur le comportement d'adhérence à la mère, l'exploration environnementale, le regard vers l'extérieur, la proximité et l'exploration sociale. D'une manière générale, pour les comportements étudiés, les individus F1 mâles se comportent comme des femelles. Les auteurs ont étudié après administration de BPA par voie sous-cutanée (par pompe osmotique) à des doses de 10 µg/kg pc/j au jour de gestation GD20, cinq types de comportements: comportement de lien physique, exploration environnementale, regarde arrière, proximité et exploration sociale, chez les petits, et attaque, locomotion, orientation, regard arrière et exploration sociale, chez les mères. Chaque comportement a été étudié de façon détaillée chez les petits mâles et femelles ainsi que chez les mères. Les scores obtenus pour chaque comportement ont été synthétisés au moyen d'un score englobant les 5 comportements discriminants. D'une manière générale, le BPA induit une perte du comportement maternel différencié entre les progénitures mâle et femelle, et une féminisation des comportements chez les petits mâles exposés au BPA, avec souvent des comportements identiques à ceux des petits femelles. Cette étude a été analysée lors de l'expertise Afssa (2010) et les limites méthodologiques suivantes ont été rapportées :

- concernant l'exposition au BPA: le taux plasmatique en BPA mesuré chez les mères uniquement au 50^{ème} jour de gestation, et inférieur à la limite de détection (12,5 ng/mL) ; aucune mesure n'est disponible chez les petits. La différence de métabolisme selon la voie d'administration n'est pas prise en compte. Aucune relation dose/effet ne peut être établie (1 seule dose).
- en termes d'interprétation des résultats: seules 1 à 3 variables sur 14 sont modifiées dans des enregistrements de courte durée (10 minutes) du comportement des singes. Leur signification reste à établir d'autant que, comme le soulignent les auteurs, aucune explication en termes de retentissement psychologique ne peut être donnée aux résultats.
- la voie d'administration (non orale), l'absence de données sur l'exposition réelle des petits, sur la teneur en phytoœstrogènes dans l'alimentation et de BPA dans l'eau, le fait qu'une seule dose ait été testée et la signification des effets observés rendent l'interprétation de cette étude délicate.

En conclusion, l'expertise de l'Afssa a considéré les résultats de cette étude comme un signal d'alerte (Afssa, 2010a).

Aucune étude n'a rapporté de changement au niveau du noyau de l'aire préoptique, zone de dimorphisme sexuel également chez l'Homme, jusqu'à des doses de 320 mg/kg pc/j chez le rat. L'interprétation de ces effets observés chez les rongeurs et de leurs conséquences reste donc difficile.

Dans l'étude récente de Ryan *et al.* déjà citée ci-dessus, aucun effet n'est observé avec le BPA sur le dimorphisme sexuel comportemental aux doses de 2, 20 et 200 µg/kg pc/j alors que, pour des doses comparables, l'éthinyl estradiol EE2 induit des effets notables : diminution du comportement de posture courbée (comportement de lordose), augmentation de la distance anogénitale, diminution du poids des jeunes à PND2, précocité de l'ouverture vaginale, diminution de la fertilité des F1 et diminution de la taille des portées (Ryan *et al.*, 2010a). Ces travaux n'impliquent pas forcément que le BPA n'a pas d'effet mais qu'il pourrait induire une action œstrogénique à des niveaux d'expositions différents de ceux pour lesquels l'EE2 induit des effets.

Des effets comportementaux sont mis en évidence chez la souris par Cox *et al.* en observant des individus F1 de mères exposées durant la gestation (de GD9 à la fin de la gestation) à des doses de 50 mg/kg de nourriture correspondant à 8 mg/kg pc/j (Cox *et al.*, 2010). L'étude de Cox *et al.* montre une annulation du dimorphisme sexuel comportemental chez les jeunes issues de mères exposées au BPA pendant la gestation.

Adewale *et al.* ont étudié les effets d'une exposition sous-cutanée néonatale de BPA chez des rats. Quatre injections de BPA ont été effectuées à PND0, PND1, PND2 et PND3 chez des nouveaux nés femelles aux doses de 50 µg/kg pc/j et 50 mg/kg pc/j (Adewale *et al.*, 2011). Deux témoins positifs ont été effectués, un par injection de PPT (agoniste de ER α , 1 mg/kg pc) et l'autre

par injection de benzoate d'œstradiol (BE 25 µg ; il n'est pas précisé dans la publication s'il s'agit de µg/par rat ou par kg). A aucune dose, le BPA n'a entraîné de modification du comportement sexuel, mais une augmentation de poids corporel a été observée à l'âge de 99 jours, uniquement à la dose de 50 mg/kg pc/j de BPA et aussi avec le BE. Il est à noter que des témoins ne peuvent être considérés comme positifs que par rapport à un effet attendu, à savoir ici une action œstrogénique. En dehors d'une action attendue, le caractère positif d'un témoin n'a aucune signification toxicologique.

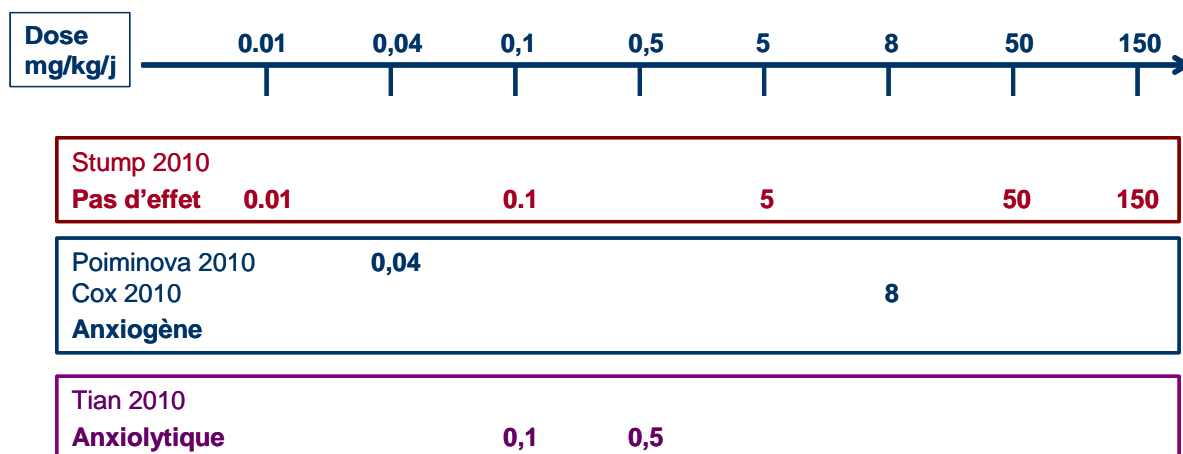


Figure 5 : Effet du BPA sur l'anxiété et le comportement exploratoire en fonction de l'exposition

6.4.2.1.2 Effets sur le développement cérébral

6.4.2.1.2.1 Effet sur le développement neural

La revue de Hajszan et Leranth est particulièrement axée sur l'action du BPA sur le remodelage synaptique (Hajszan et Leranth, 2010). Elle souligne que, chez le rat et le primate non humain, le BPA inhibe de 70-100% la synaptogenèse physiologiquement induite dans l'hippocampe et dans le cortex préfrontal, induite par les estrogènes et les androgènes.

Kim *et al.* ont conduit une étude d'exposition prénatale chez la souris ICR et *in vitro*. Dans l'exposition prénatale, les mères ont été exposées entre les stades embryonnaires GD 14,5 et GD18, 5 par administration sous-cutanée de doses de 0, 5, 10 et 20 mg/kg pc/j (Kim *et al.*, 2009). Des études sur la neurogénèse de l'hippocampe ont été réalisées en exposant les jeunes durant 3 jours, à partir de la semaine post-natale PNW8, à raison de deux injections par jour d'une dose de 20 mg de BPA/kg en présence de BrDU pour étudier la neurogénèse. Les études *in vivo* montrent qu'à PNW3, il est possible de constater une augmentation du poids corporel à la dose de 5 mg/kg et une diminution à la dose de 20 mg/kg. Ces modifications ne sont pas observées à PNW8, ce qui conduit les auteurs à suggérer des effets médiés par la mère. Le *dendate gyrus* est précocement

formé à PND1 à la dose de 20 mg/kg. Les auteurs suggèrent que le BPA bloque la prolifération des cellules souches neurales et promeut la différenciation cellulaire à un stade relativement précoce. En revanche, à PNW3, aucun effet du BPA n'est observé sur la structure corticale de cellules neurales de l'hippocampe et sur la densité cellulaire. Chez la souris adulte, aucun effet du BPA n'est observé sur la neurogenèse de l'hippocampe. Dans les études *in vitro*, des progéniteurs neurales de souris ont été exposés au BPA à des concentrations de 1 nM à 500 µM. Le BPA diminue la prolifération des progéniteurs neurales d'une manière concentration-dépendante à partir de 200 µM et induit la cytotoxicité à la plus haute concentration (500 µM). A basse concentration, le BPA stimule la différenciation des progéniteurs neurales en phénotypes neuronaux.

6.4.2.1.2.2 Effet sur les systèmes aminergiques¹⁴

Tian *et al.* ont rapporté qu'une exposition orale périnatale (GD7 à PND36) de souris à des doses de BPA 100 et 500 µg/kg pc/j induisait une augmentation des récepteurs D2 de la dopamine et une baisse des transporteurs de la dopamine (DAT) dans le putamen (Tian *et al.*, 2010).

Le BPA induit des modifications du développement cérébral. Une exposition périnatale des souris (jour embryonnaire GD0-PND21) par injection sous-cutanée à la dose de 20 µg/kg pc/j induit une augmentation de la dopamine et ses métabolites dans le putamen et le noyau du raphé dorsal et une augmentation de la sérotonine et de ses métabolites dans le putamen, le noyau du raphé dorsal, le thalamus et dans la substance noire (Nakamura *et al.*, 2010). Aucune différence n'a été observée dans les effets synaptogéniques du BPA entre une exposition orale et sous-cutanée (Hajszan et Leranth, 2010).

Chez des rats ayant subi une injection intracérébrale unique de BPA au PND2 avec des doses de 0 – 0,1 et 1 µg/kg, des changements significatifs de certaines monoamines peuvent être observés 7 jours et 28 jours après l'injection (PND9 et PND30) (Matsuda *et al.*, 2010). Il est observé une augmentation significative de la 5-HT (sérotonine) dans l'hippocampe, de 5-HIAA (acide 5-hydroxyindolacétique) et de 5-HT dans le tronc cérébral, de DA (dopamine) et du DOPAC (acide 3,4-dihydroxyphényl acétique) dans le striatum 28 jours après l'injection. Sept jours après l'injection, une augmentation de la 5-HT et de la noradrénaline (NE), et une diminution du DOPAC et du 5-HIAA sont observées dans l'hippocampe. Dans cette étude, les auteurs ont analysé la vitesse de disparition du BPA dans le cerveau. Le BPA disparaît des tissus cérébraux dans les 5 heures qui suivent l'injection, même avec la plus forte dose de 1000 µg/kg. Les auteurs concluent

¹⁴ Le **système dopaminergique** joue un rôle dans la fonction cognitive puisque des lésions des neurones dopaminergiques entraînent une diminution des performances associées à diverses tâches d'apprentissage ou cognitives.

que le BPA peut avoir des effets sur les monoamines cérébrales dans les 28 jours qui suivent sa disparition. Les auteurs ne décrivent pas la méthode analytique de dosage du BPA, ni les limites de détection et de quantification. Ainsi, des teneurs résiduelles en BPA, inférieures à la limite de détection, pourraient induire des effets durant la période de 28 jours qui suit l'exposition. Toutefois, cela ne modifie pas l'interprétation des résultats. Cette étude est à considérer avec prudence car les doses rapportées au poids corporel des individus ont été administrées au niveau du cerveau, ce qui ne permet pas d'évaluer l'importance de l'exposition. De plus, l'injection *in situ* de BPA modifie fortement la toxicocinétique et, par la même, les effets potentiels du BPA.

Dans l'étude d'Adewale *et al.* déjà citée ci-dessus, les effets d'une exposition sous-cutanée néonatale de BPA chez des rats ont été étudiés (Adewale *et al.*, 2011). A aucune dose, le BPA n'a entraîné de changement dans la densité des fibres sérotoninergiques dans la subdivision ventrolatérale du noyau ventromédian, alors qu'une augmentation a été observée avec le BE et le PPT utilisés comme témoins positifs.

6.4.2.1.2.3 Effet sur le système glutamatergique

Dans l'étude de Tian *et al.*, mettant en œuvre des doses de BPA de 100 et 500 µg/kg pc/j chez la souris, en exposition périnatale (GD7 à PND36), une diminution des récepteurs NMDA dans le cortex frontal, dans le gyrus denté (DG) et dans les ammonis Cornu 1 et 3 (CA1 et CA3) de l'hippocampe a été observée (Tian *et al.*, 2010). Xu *et al.* ont étudié les effets d'une exposition orale (intra-gastrique) périnatale au BPA (GD7-PND21) dans une gamme de doses allant de 0 – 0,05 – 0,5 – 5 et 50 mg/kg pc/j chez la souris (Xu *et al.*, 2010c) et de 0 – 0,05 – 0,5 – 5 - 50 et 200 mg/kg pc/j chez le rat (Xu *et al.*, 2010b). Ils montrent que le BPA induit une action négative sur l'expression des récepteurs NMDA de l'hippocampe chez les rats et souris mâles. Le BPA aux doses de 0,05 à 50 mg/kg pc/j diminue l'expression des récepteurs NMDA (sous-unités NR1, NR2A et NR2B) hippocampaux chez les mâles F1. Cependant, chez le rat, comparés aux faibles doses, les effets du BPA à la dose la plus élevée de 200 mg/kg pc/j induit des effets moins marqués sur les sous-unités NR2A et NR2 des récepteurs NMDA, ce qui suggère une action différentielle du BPA à faibles et fortes doses. Ces modifications d'expression des récepteurs NMDA sont associées à une détérioration des facultés d'apprentissage.

Ces résultats sont appuyés par des études sur culture *in vitro* de neurones hippocampaux exposés au BPA aux concentrations de 10 à 1000 nM) (Xu *et al.*, 2010a). Il a été observé une modification de la morphologie dendritique des neurones hippocampaux (densité et motilité des filopodes accrues) et une augmentation de la phosphorylation des récepteurs NMDA (sous-unité NR2B) *via* une action du BPA sur les récepteurs aux estrogènes (effet annulé par l'antagoniste des récepteurs œstrogéniques ICI 182,780).

Les effets développementaux sur les récepteurs NMDA sont à considérer avec attention sachant que ces récepteurs sont impliqués dans les processus de mémoire et d'apprentissage. Ils sont aussi confortés par l'action du BPA dans les systèmes neuraux exprimant la nitrique oxyde

synthase (NO synthase) avec des effets sexe et région dépendants dans l'hypothalamus et le système limbique (Martini *et al.*, 2010).

6.4.2.1.2.4 Effet sur les systèmes impliquant les hormones sexuelles

Adewale *et al.* ont montré que, chez des nouveaux nés rats femelles soumises à une exposition post-natale par voie sous-cutanée avec 4 injections à PND0, 1, 2 et 3, le BPA entraînait une augmentation du nombre de neurones à l'ocytocine dans le noyau paraventriculaire, région de l'hypothalamus à dimorphisme sexuel sensible à l'œstradiol, aux deux doses de BPA 50 µg/kg pc/j et 50 mg/kg pc/j (Adewale *et al.*, 2011). Cette exposition post-natale n'a pas induit de modification de comportement sexuel, mais a induit une augmentation de poids corporel à l'âge de 99 jours, uniquement à 50 mg/kg pc/j de BPA, observée aussi avec le benzoate d'œstradiol. Aucun changement dans la densité des récepteurs ERα n'a été observé dans la subdivision ventrolatérale du noyau ventromédian (VMNvl), l'aire préoptique médiale (MPOA) et le noyau arqué (ARC).

Chez le mouton, une exposition prénatale au BPA (GD30-GD90) à 5 mg/kg pc/j induit des changements différentiels dans l'expression des récepteurs aux estrogènes ESR1 (ERα) et ESR2 (ERβ) hypothalamiques, avec une augmentation de l'expression pour ESR1 et une diminution pour ESR2 (Mahoney et Padmanabhan, 2010). Ces changements sont associés à une augmentation de l'expression de gonadolibérine (GnRH). Chez le rat (Xu *et al.*, 2010b) et chez la souris (Xu *et al.*, 2010c), une exposition périnatale au BPA (GD7-PND21) aux doses de 0,05 à 50 mg/kg pc/j induit une diminution de l'expression des récepteurs estrogènes ERβ et augmentation de l'aromatase dans l'hippocampe. Ces études confirment les travaux de Salian *et al.* qui montrent une augmentation de l'expression des récepteurs œstrogènes ERα et une diminution des récepteurs ERβ dans les testicules chez des rats dont les mères avaient été exposées au cours d'une période qui s'étend de la gestation (à partir du GD12) jusqu'au sevrage (PND21) (Salian *et al.*, 2009c). Ces résultats sont observés chez les F1 de mères exposées mais aussi chez les F2 et F3 non traitées.

Une étude conduite chez le rat SD, dans un protocole d'exposition périnatale à faible dose (2 µg/kg pc/j sc) de GD10 à PND7, indique clairement que cette exposition pourrait modifier la différenciation sexuelle du système à GnRH chez les petits mâles notamment à travers l'augmentation de l'expression de la kisspeptine dans le noyau péri-ventriculaire antéro-ventral (AVPV) de l'hypothalamus (Bai *et al.*, 2011). Le BPA induit une augmentation du nombre de neurones AVPV exprimant la kisspeptine à PND30, PND50 et PND90. Le BPA induit une baisse de 40% du nombre de neurones exprimant la GnRH à PND30 suivie d'une hausse constante à PND50 et PND90. Cet effet se traduit par l'apparition de la capacité chez les mâles adultes castrés de générer une sécrétion de LH de type pic préovulatoire en réponse à une dose « préovulatoire » d'œstradiol. Cette capacité, chez le rongeur, est considérée comme un signe caractéristique de féminisation de la composante nerveuse de l'axe gonadotrope. Cette capacité n'est pleinement exprimée que chez les mâles après 90 jours d'âge. En outre, sur des animaux non castrés, l'exposition au BPA se traduit par une augmentation des concentrations en LH, une diminution des

concentrations en testostérone chez les jeunes adultes (PND30 et 50) et une augmentation des concentrations en estradiol à PND50 et 90. Ces effets endocriniens sont interprétés par les auteurs comme des signes indicateurs d'une stimulation au long terme de l'activité aromatasase périphérique chez les animaux exposés au BPA.

6.4.2.2 Exposition post-natale

Une **modification du comportement maternel** a été rapportée après une exposition au BPA à 10 µg/kg pc/j par voie orale de la naissance à l'âge adulte (Palanza *et al.*, 2008) : les souris de la génération F1 exposées en période post-natale ont montré une diminution du temps passé aux soins accordés à leurs petits (nursing) et une augmentation du temps passé hors de la litière. Cependant, aucun effet sur le poids n'a été mis en évidence chez les petits (ce qui témoignerait d'un niveau de soin adéquat). La signification pour la santé humaine des effets observés chez la souris (temps de nursing et nidification) n'étant démontrée que par une seule équipe, on peut le considérer comme suspecté.

Tableau VIII : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur le cerveau et le comportement

Références	Espèce/ souche	Voies	Dose Période d'exposition	Effets NOAEL/LOAEL
(Poimenova <i>et al.</i> , 2010)	Rat Wistar	Orale	40 µg/kg pc/j GD1 - sevrage (42 jours)	↗ des niveaux de corticostérone et ↘ des niveaux de GR chez les males à l'état basal et dans les 2 sexes après stress Pas d'effet sur le récepteur MR en condition normales, mais ↘ du taux de MR chez les femelles dans les 2 groupes de femelles ↘ de la mémoire spatiale dans les 2 sexes ↘ du comportement exploratoire chez les femelles et apparition d'un comportement anxieux
(Stump <i>et al.</i> , 2010)	Rat CD-SD	Orale	0,15 - 1,5 - 75 - 750 et 2250 ppm aliment Gestation : 0,01 - 0,12 - 5,85 - 56,4 - 164 mg/kg pc/j Lactation : 0,03 - 0,25 - 13,1 - 123 - 410 mg/kg pc/j GD0 - PND21	Aucun effet sur le comportement exploratoire Pour les effets systémiques : NOAEL = 5,85 mg/kg pc/j pour la gestation et de 13,1 mg/kg pc/j pour la lactation Pour les effets neurotoxiques : NOAEL à 5,85 mg/kg pc/j pour la gestation et 13,1 mg/kg pc/j pour la lactation
(Nakagami <i>et al.</i> , 2009)	Singe cynomologus	Sous-cutanée	10 µg/kg pc/j (taux sanguin équivalent à celui d'une ingestion de 5 mg/kg pc/j chez le rat) PND31-60 et PND61 - 90	Analyse univariée : effet significatif sur 3 comportements infantiles et 1 comportement maternel : - chez les F1 ♂ : comportements «d'enlacement» et «d'exploration sociale» ↘ à 2 mois et comportement « de regards externes » ↗ à 2 et 3 mois. - Chez les mères de ♂, comportement de « regards externes » ↗ à 2 et 3 mois. Analyse multivariée : scores discriminants des ♂ F1 s'apparentent plus à ceux des témoins ♀ F1 qu'à ceux des témoins F1 ♂. Aucun effet chez ♀, Concernant le comportement maternel, les mères de F1 ♂ : scores discriminants plus proches de ceux des mères témoins de F1 ♀ que de ceux des mères témoins de F1 ♂.
(Kubo <i>et al.</i> , 2001)	Rat Wistar	Orale	1,5 mg/kg pc/j GD0 - PND21	Absence de dimorphisme sexuel comparé au témoin Pas de modification des organes reproducteurs ou des hormones sexuelles
(Kubo <i>et al.</i> , 2003)	Rat Wistar	Orale	0,03 - 0,3 mg/kg pc/j GD0 - PND21	Effet sur le dimorphisme sexuel : suppression et inversion des différences de comportement openfield (activité locomotrice, hyperactivité, comportement exploratoire et anxiété)

				LOAEL = 0,03 mg/kg pc/j
(Funabashi <i>et al.</i> , 2004)	Rat Wistar	Orale	2,5 mg/kg pc/j GD0 - PND21	Présence de différence du nombre de neurones CRH (corticotropin-releasing hormone-immunoreactive) entre les femelles et les mâles dans l'aire préoptique mais absence de différence dans le BST (bed nucleus of the stria terminalis). Pas de différence significative du nombre de neurones CRH entre les exposés ou les non exposés, tous sexes confondus
(Patisaul <i>et al.</i> , 2006)	Rat CD- SD	Sous-cutanée	500 µg/animal/j PND1 - PND2	Démasculinisation de l'immunoréactivité de la thyrosine hydrolase dans le noyau antéroventral périventriculaire de l'hypothalamus
(Patisaul <i>et al.</i> , 2007)	Rat CD- SD	Sous-cutanée	500 µg/animal/j PND1 - PND2	Absence de modification de volume du noyau du dimorphisme sexuel (SDN) dans l'aire préoptique Augmentation du nombre de neurones à calbindine dans le SDN Absence de démasculinisation du volume du noyau antéroventral périventriculaire de l'hypothalamus mais les modèles d'activation neuronale dépendante n'a pas été affectée
(Rubin <i>et al.</i> , 2006)	Souris CD-1	Sous-cutanée	0 – 25 - 250 ng/kg pc/j GD8 - PND16	↘ de la différence intersexuelle du nombre de neurones à tyrosine hydroxylase due à une ↘ du nombre de neurones à TH chez les femelles Alteration du dimorphisme sexuel chez les exposés LOAEL = 25ng/kg pc/j
(Ryan <i>et al.</i> , 2010a)	Rat Long-Evans	Orale	2 - 20 ou 200 µg/kg pc/j GD7 - PND18	Aucun effet sur le dimorphisme sexuel comportemental
(Cox <i>et al.</i> , 2010)	Souris	Orale	8mg/kg pc/j (BPA administré dans la nourriture) GD9 - PND0	Annulation du dimorphisme sexuel comportemental chez les jeunes exposés lors de l'embryogénèse Pas d'effet sur la prise de nourriture, sur le comportement de soin ou de marquage urinaire chez les petits quelque soit l'origine de la mère (traitée ou non). Augmentation de l'anxiété (test du labyrinthe en croix) Aucun effet d'une exposition au BPA durant la gestation sur le poids des gonades de la descendance mâle ou femelle Aucun effet sur le niveau de corticostérone chez la descendance mâle ou femelle LOAEL 8 mg/kg pc/j (correspondant à 50 mg/kg aliment)
(Adewale <i>et al.</i> , 2011)	Rat Long-Evans	Sous-cutanée	50 µg/kg pc/j et 50 mg/kg pc/j	Absence de modification du comportement sexuel ↗ du poids corporel à l'âge de 99 jours,

			PND0 - PND3 (4 injections)	uniquement à la dose de 50 mg/kg pc/j Absence de changement dans la densité des fibres sérotoninergiques ni dans la densité des récepteurs ER α dans la subdivision ventrolatérale du noyau ventromédian \nearrow du nombre de neurones à l'ocytocine dans le noyau paraventriculaire à BPA 50 μ g/kg pc/j et 50 mg/kg pc
(Kim <i>et al.</i> , 2009)	Souris ICR	Sous-cutanée	5-10-20 mg/kg pc/j GD14,5 - GD18,5 puis injection de 20mg/kg 2 fois par jour pendant 3 jours à partir de PNW8	F1 A PNW3, \nearrow du poids corporel à 5 mg/kg et \searrow à 20 mg/kg mais pas à PNW8 Formation précoce du dendate à PND1 à la dose de 20 mg/kg. → BPA bloquerait la prolifération des cellules souches neurales et promouvoir la différenciation cellulaire à un stade relativement précoce. Aucun effet du BPA n'est observé sur la structure corticale de cellules neurales, de l'hippocampe et sur la densité cellulaire. Chez la souris adulte, aucun effet du BPA n'est observé sur la neurogenèse de l'hippocampe.
(Tian <i>et al.</i> , 2010)	Souris ICR	Orale	100 et 500 μ g/kg pc/j GD7 - PND36	\nearrow des récepteurs D2 de la dopamine et une baisse des transporteurs de la dopamine (DAT) dans le putamen \searrow des récepteurs NMDA dans le cortex frontal, dans le gyrus denté (DG) et dans les ammonis Cornu 1 et 3 (CA1 et CA3) de l'hippocampe
(Matsuda <i>et al.</i> , 2010)	Rat	Intra-cérébrale	0,1-1-10 μ g/kg injection unique à PND2 (1 ^{ère} expérience) 1000 μ g/kg injection unique à PND2 (2 ^{ème} expérience)	\nearrow significative de sérotonine dans l'hippocampe, de 5-HIAA et de 5-HT dans le tronc cérébral, de dopamine et du DOPAC dans le striatum 28 jours après l'injection. Sept jours après l'injection, \nearrow de la 5-HT et de la noradrénaline (NE), et \searrow de la DOPAC et du 5-HIAA sont observées dans l'hippocampe Disparition du BPA des tissus cérébraux dans les 5 heures qui suivent l'injection, même avec la plus forte dose de 1000 μ g/kg → BPA pourrait avoir des effets sur les monoamines cérébrales dans les 28 jours qui suivent sa disparition
(Xu <i>et al.</i> , 2010b)	Souris et rat	Orale	0 – 0,05 – 0,5 – 5 – et 50 mg/kg pc/j chez la souris et jusqu'à 200 mg/kg pc/j chez le rat GD7 - PND21	une action négative du BPA sur l'expression des récepteurs NMDA et ER β de l'hippocampe chez les rats et souris mâles <u>Doses 0,05 à 50 mg/kg pc/j</u> \searrow l'expression des récepteurs NMDA (sous-unités NR1, NR2A et NR2B) hippocampaux chez les mâles F1 \searrow l'expression des récepteurs estrogènes ER β et \nearrow de l'aromatase dans l'hippocampe
(Mahoney et Padmanabhan, 2010)	Mouton	Sous-cutanée	5 mg/kg pc/j	\nearrow de l'expression de l'ESR1 et \searrow de l'expression de l'ESR2 \nearrow de l'expression de gonadolibérine

			G30 - G90	
(Palanza <i>et al.</i> , 2008)	Souris CD-1	Orale	10 µg/kg pc/j 3 scénarios 1) GD14 -GD18 2) pendant la gestation et poursuivie après la naissance jusqu'à l'âge adulte 3) uniquement après la naissance jusqu'à l'âge adulte	Modifications du comportement maternel chez F1 uniquement après exposition <i>in utero</i> ou à âge adulte (scénarios 1 et 3), mais pas lors du scénario 2 ↘ temps que mères accordent à leurs petits et ↗ temps où elles restent seules dans la cage (temps de repos isolé). aucun effet sur le poids des petits à la naissance

6.4.3 Conclusion

Chez l'Homme, le Groupe de travail a considéré que les données humaines disponibles étaient insuffisantes à ce jour pour conclure sur les effets du BPA sur le comportement.

Chez l'animal, les effets en lien avec une exposition au BPA pré ou périnatale sur le **développement cérébral** sont confirmés par plusieurs études qui montrent, notamment, des modifications du profil de neurodifférenciation, des altérations des systèmes aminergique et glutamatergique NMDA, des modifications de l'expression des récepteurs œstrogènes ER α et ER β , et du nombre de neurones sensibles à l'ocytocine et à la sérotonine. Ces modifications interviennent particulièrement dans des régions telles que l'hypothalamus (plus précisément dans des régions impliquées dans le dimorphisme sexuel) et dans l'hippocampe, région impliquée dans les activités cognitives et l'anxiété, notamment celles associées aux récepteurs NMDA. Ces effets neuraux pourraient expliquer en partie les effets comportementaux du BPA et permettre d'orienter les recherches de façon à confirmer ou infirmer les effets du BPA sur le dimorphisme sexuel comportemental, sur l'anxiété et le comportement exploratoire et orienter les recherches à venir. **Ces modifications histologiques sur la neurogenèse sont retenues par le groupe de travail comme des effets avérés chez l'animal.**

Chez l'animal, les études en lien avec une exposition au BPA pré ou périnatale **sur l'anxiété** ont été conduites avec des niveaux d'exposition qui ne sont pas directement superposables. Il a été observé une absence d'effet (Stump *et al.*, 2010), un effet anxiogène (Cox *et al.*, 2010; Poimenova *et al.*, 2010) et un effet anxiolytique (Tian *et al.*, 2010) du BPA. Ainsi, compte tenu de ces résultats et ceux antérieurs à 2010, **les effets, en lien avec une exposition au BPA pré ou périnatale, sur l'anxiété sont controversés chez l'animal, ainsi que ceux sur le comportement exploratoire et le dimorphisme sexuel comportemental.**

Chez l'animal, les modifications du comportement maternel en lien avec une exposition pré ou post-natale au BPA sont des effets suspectés.

- **Ces modifications histologiques sur la neurogenèse sont des effets à retenir pour l'évaluation des risques sanitaires.**

6.5 Effets sur le métabolisme et le système cardio-vasculaire

Le syndrome métabolique, associé à un état d'insulinorésistance, constitue une entité qui regroupe chez le même individu plusieurs critères parmi les suivants: obésité centrale (viscérale), hypertriglycéridémie, HDL-cholestérol bas, élévation de la pression artérielle et hyperglycémie à jeun. Il prédispose au risque cardiovasculaire et à celui de diabète de type 2 (cf. glossaire).

Le panel d'experts réuni à Chapel Hill en 2007 considère que les résultats *in vivo* sont contradictoires. Ainsi, certaines études montrent une diminution ou une absence d'effet sur le poids corporel en réponse à une exposition développementale au BPA. D'autres études montrent une augmentation de la croissance post-natale suivant une exposition pendant le développement *in utero* (Richter *et al.*, 2007).

Le NTP-CERHR indique également que les données disponibles ne sont pas assez concluantes pour relier l'exposition prénatale au BPA à l'obésité (NTP-CERHR, 2008). Il rapporte 2 études animales qui ont évalué la perturbation de la régulation du métabolisme des lipides et des glucides. Chez le rat mâle, les doses sous-cutanées de 0,01 et de 0,10 mg/kg pc/j de BPA causent une diminution de la glycémie et une augmentation de l'insulinémie (Alonso-Magdalena *et al.*, 2006). De plus, une augmentation de la fabrication d'insuline par le pancréas et une insulinorésistance ont été décrits à 0,10 mg/kg pc/j (administrés oralement ou par injection SC) après une période de 4 jours. L'étude de Miyawaki *et al.* rapporte des effets sur le poids corporel, le poids du tissu adipeux, les concentrations sériques de leptine, la triglycéridémie, les acides gras non estérifiés et le glucose (Miyawaki *et al.* 2007). Cependant, ces études ont été considérées par le NTP comme non recevables en raison de problèmes méthodologiques.

Certaines études ont évalué les mécanismes susceptibles d'interagir avec le métabolisme des lipides et des glucides : une stimulation par le BPA des récepteurs α à l'œstrogène présents dans les cellules pancréatiques bêta a été observée (Richter *et al.*, 2007 ; Ropero *et al.*, 2008 ; Nadal *et al.*, 2009 ; Alonso-Magdalena *et al.*, 2006, 2008), ainsi qu'un stress oxydatif qui pourrait contribuer à entraîner une résistance à l'insuline (Hong *et al.*, 2009). De même, le NTP-CERHR rapporte une accélération de la différenciation des fibroblastes en adipocytes, et une altération du transport du glucose dans les adipocytes (Masuno *et al.*, 2002 et 2005 ; Phrakonkham *et al.*, 2008 ; Sakurai *et al.*, 2004) (NTP-CERHR, 2008).

D'après Aschberger *et al.* (2010), des études épidémiologiques ainsi que des résultats d'études *in vivo* et *in vitro* suggèrent qu'une exposition au BPA induit un « syndrome métabolique » (Aschberger *et al.*, 2010). Des anomalies des enzymes hépatiques sont également décrites

(Takeuchi *et al.*, 2004 ; Lang *et al.*, 2008 ; Newbold *et al.*, 2009a ; Elobeid *et al.*, 2008 rapporté par Aschberger *et al.*, 2010).

Les experts de la FAO/OMS considère que les 2 études chez l'Homme qui ont rapporté une association positive entre les concentrations de BPA urinaires et des pathologies cardiovasculaires ou le diabète (Lang *et al.*, 2008 ; Melzer *et al.*, 2010) présentent des faiblesses qui limitent leur interprétation (FAO/OMS, 2010). Les experts considèrent nécessaire la mise en place d'études prospectives associant des mesures de BPA durant diverses fenêtres de susceptibilité et la survenue de maladies cardiovasculaires ou de diabète plusieurs années après. Deux études ont examiné les malformations à la naissance et l'index de poids corporel mais les résultats sont difficiles à interpréter (Padmanabhan *et al.*, 2008 ; Wolff *et al.*, 2008); les experts recommandent la poursuite d'études mesurant le lien entre l'exposition au BPA pendant la grossesse (BPA urinaire sur plusieurs prélèvements) et l'index de poids corporel et la masse adipeuse à la naissance.

Chez l'animal, concernant les effets cardiovasculaires, selon ce panel, les données disponibles ne sont pas clairement en faveur d'un effet du BPA et, en particulier, les études réalisées selon les BPL sur de larges échantillons n'ont pas montré de toxicité sur le système cardio-vasculaire. Des modifications de l'expression du VEGF, de la synthèse du NO et des canaux ioniques ont cependant été rapportées mais sans effet adverse associé à ce jour. Ces experts sont informés d'études en cours sur la cardiotoxicité du BPA.

Concernant les effets sur le métabolisme, les données disponibles ne sont pas suffisantes pour avancer des conclusions quant aux effets du BPA. Selon ce panel, les conclusions du NTP-CERHR de 2008 sur l'absence d'effet du BPA sur l'obésité à des doses < 5000 µg/kg pc/j restent valides. L'examen du poids des nouveaux nés n'est toutefois pas suffisant pour conclure sur l'obésité, contrairement à une mesure directe de la masse grasseuse et de sa distribution). Cependant, les données disponibles telles que intolérance au glucose, hyperinsulinémie, hypertrophie adipeuses,... suggèrent que des études complémentaires quant aux effets du BPA sur la régulation du métabolisme des lipides, du glucose ou de l'insuline et sur d'autres effets en lien avec le diabète ou des désordres métaboliques seraient nécessaires. Ces effets doivent être investigués chez l'animal adulte exposé pendant la grossesse, incluant des études chez l'animal âgé (FAO/OMS, 2010).

6.5.1 Données humaines

Hong *et al.* ont étudié les niveaux de stress oxydatif dans une population adulte vivant en milieu urbain en Corée entre avril et décembre 2005 exposé à divers contaminants (Hong *et al.*, 2009). Un total de 960 (85%) personnes sur 1131 sujets identifiés dont 46% étaient des hommes et 54% des femmes ont répondu au questionnaire. Un questionnaire sur les habitudes de vie a été élaboré et des études d'exposition environnementales ont été conduites. De plus, des échantillons d'urine et de sang ont été prélevés. L'objectif était d'évaluer l'association entre l'exposition chimique et le stress oxydatif, et la contribution potentielle de certaines expositions chimiques environnementales

à l'insulino-résistance. Les auteurs ont retrouvé une relation positive significative entre concentrations urinaires de contaminants chimiques, notamment phtalates et BPA, et des marqueurs de stress oxydatif dans une analyse de régression simple. Néanmoins, cette relation disparaissait pour le BPA dans un modèle de régression multiple contrôlant les facteurs âge, sexe, tabac et activité physique. Les niveaux des marqueurs de stress oxydatifs étaient corrélés à ceux de l'insulino-résistance des tissus périphériques. Une association positive était retrouvée entre niveaux urinaires de BPA et glycémie à jeun. Les auteurs concluent que l'exposition aux contaminants chimiques est associée au stress oxydatif dans une population d'adultes en milieu urbain et suggèrent que certains contaminants chimiques environnementaux pourraient contribuer à l'insulino-résistance.

En 2008, Lang *et al.* ont conduit une étude transversale chez 1455 adultes âgés de 18 à 74 ans aux États-Unis. Il s'agissait d'une banque de données du National Health and Nutrition Examination Survey (NHAHES) 2003-04 (Lang *et al.*, 2008). Des modèles de régressions standardisés ont permis d'ajuster les résultats sur l'âge, le sexe, l'éthnie d'origine, l'éducation, les revenus, la consommation de cigarettes, l'Indice de Masse Corporelle (IMC) et le tour de taille. Des mesures de BPA total (libre et conjugué) ont été réalisées par HPLC-MS dans l'urine et corrigées par la créatinine. Les concentrations élevées en BPA (5 et 13 ng/mL) sont associées avec un niveau de risque plus élevé de pathologies cardiovasculaires, uniquement y compris après ajustement par l'âge et le sexe. Une association avec le diabète a été retrouvée, mais pas avec d'autres types de pathologies. Une augmentation significative des concentrations en phosphatase alcaline et en γ -glutamyl transférase était associée avec des concentrations élevées en BPA. Les auteurs restent généraux dans leur conclusion et parlent d'une association possible entre les fortes expositions au BPA et la morbidité chez l'adulte. Le groupe de Melzer *et al.*, qui fait partie de l'équipe de Lang *et al.*, a repris les données de la sous-population d'adulte de NHANES (Melzer *et al.*, 2010). Cette nouvelle analyse confirme en partie les résultats de la campagne 2003-2004. Il ressort que les fortes expositions au BPA, reflétées par des concentrations urinaires en BPA élevées, sont associées à des pathologies cardiovasculaires (maladies coronariennes) dans la campagne 2005-2006 et dans les deux campagnes regroupées, et au diabète dans les deux campagnes regroupées mais pas dans celle de 2005-2006.

Les mécanismes d'action du BPA aboutissant à des maladies cardiaques ne sont absolument pas connus à ce jour. Cependant, Asano *et al.* ont rapporté une voie d'action possible qui pourrait impliquer les canaux potassiques Maxi-K ($K_{ca}1.1$) à la fois sensibles aux œstrogènes et au BPA (Asano *et al.*, 2010). Une des limites de l'étude d'Asano *et al.* est que la concentration en BPA induisant une activation des canaux Maxi-K est observée à une concentration pharmacologique (10 μ M), peu compatible avec les niveaux d'exposition environnementaux au BPA (Asano *et al.*, 2010).

Une étude transversale a été réalisée au Japon afin d'étudier l'influence du BPA, de l'âge et de l'IMC sur les changements hormonaux dans le sang (Takeuchi *et al.*, 2004). Au total, 73 femmes ont été recrutées, puis réparties après consultation médicale en 6 groupes comprenant : les femmes diagnostiquées comme normales (poids normal ; sans pathologie associée), obèses (sans pathologie associée), hyperprolactonémiques, souffrant d'aménorrhée hypothalamique ou encore souffrant du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) comprenant un sous-groupe de femme obèse et non obèse. Les auteurs ont identifié une forte relation entre les concentrations de BPA sérique et les effets sur le métabolisme des androgènes. Plus précisément, Takeuchi *et al.* ont rapporté une corrélation positive dans le groupe des femmes diagnostiquées comme normales, entre la concentration de BPA sérique et les concentrations de testostérone libre, de l'androstènedione et du sulfate de déhydroépiandrosterone (DHEAS). Il a été aussi montré une corrélation positive en prenant toutes les femmes des 6 groupes et en calculant une corrélation entre le BPA et les concentrations de testostérone (libre et totale), de l'androstènedione et du DHEAS. Les auteurs concluent à une forte relation entre les concentrations de BPA sérique et la concentration d'androgènes qu'ils attribuent à l'interaction du BPA sur le métabolisme des androgènes. Toutefois, ces résultats restent difficilement interprétables en l'état, en raison de l'imprécision du plan d'échantillonnage, du manque d'information sur les critères d'inclusion (en particulier pour la constitution du groupe contrôle). De plus, le fait de prendre en compte les femmes des 6 groupes ensemble introduit un biais de sélection dû aux différentes pathologies diagnostiquées. Les corrélations calculées, même si celles-ci sont significatives, se situent entre 0,391 et 0,684. Ces faibles valeurs de corrélation peuvent s'expliquer par le faible effectif utilisé, la variabilité des paramètres mesurés, les biais liés à la sommation des pathologies ou la technique analytique utilisée (ELISA) ...

6.5.2 Données animales

6.5.2.1 Exposition prénatale et périnatale

- **Effets sur le métabolisme du glucose**

Alonso-Magdalena *et al.* ont étudié les effets du BPA sur le métabolisme du glucose chez la souris mère, durant la gestation, et chez les descendants F1 mâles (Alonso-Magdalena *et al.*, 2010). L'exposition a été effectuée chez la mère par voie sous-cutanée, de GD9 à GD16 aux doses de 0, 10 et 100 µg/kg pc/j. Chez la descendance F1, les mâles de 6 mois présentent une réduction de la tolérance au glucose, une augmentation de la résistance à l'insuline et des taux plasmatiques plus élevés d'insuline, de leptine, de triglycérides et de glycérol. De plus, les îlots de Langerhans présentent une altération de la signalisation médiée par le calcium. Les auteurs notent une diminution de l'incorporation de BrdU dans les cellules β sécrétrices d'insuline, alors que leur surface est inchangée. Cependant, ces derniers résultats, bien que vraisemblables, doivent être considérés avec prudence, car ils ont été obtenus avec des cellules en cultures, issues d'individus exposés. Aussi, compte tenu des méthodes d'isolement et de mise en culture, les cellules en

cultures ont des phénotypes différents de celui des cellules *in situ*. Une telle approche est plutôt pertinente pour effectuer une analyse instantanée de l'état cellulaire après fixation rapide et traitement des tissus. Cependant, elle est peu appropriée pour étudier les différences de fonctionnement cellulaire entre des individus témoins et exposés à un agent stressant.

Ryan *et al.* ont testé l'hypothèse selon laquelle une exposition périnatale au BPA, à des niveaux de doses compatibles avec une exposition environnementale (0,25 µg de BPA/kg pc/j) aboutirait à une plus grande sensibilité à l'obésité induit par un régime riche en lipides et à une intolérance au glucose chez les souris CD-1 (Ryan *et al.*, 2010b). Les individus F1 ont subi une exposition périnatale au BPA (1 µg/kg via la nourriture des mères, équivalent à environ 0,25 µg/kg pc/j) du stade embryonnaire GD0 au sevrage (PND21). Chez les individus F1 sevrés, il est observé une augmentation du poids corporel chez les mâles et les femelles à 3 semaines et une augmentation de la longueur corporelle chez les mâles à 4 semaines, ces différences biométriques s'estompant à l'âge adulte. Aucun effet significatif n'est observé sur la tolérance au glucose. Les auteurs concluent que l'augmentation de la longueur et du poids corporel est due à un taux de croissance supérieur chez les souris exposées plutôt qu'à un état d'obésité.

- **Effet sur le métabolisme lipidique**

Somm *et al.* ont étudié les effets du BPA chez des rats (Sprague-Dawley) F1 soumis à une exposition périnatale (GD6 à PND21) en administrant aux mères une eau de boisson contenant du BPA à la concentration de 1 mg/L (correspondant à 70 µg/kg pc/j) (Somm *et al.*, 2009). D'une manière générale, le BPA n'altère pas le sex-ratio ni la taille des portées. Les individus F1 mâles et femelles exposés au BPA ont des poids supérieurs à ceux des contrôles à PND1. A PND21, seul le poids des femelles est augmenté avec une augmentation de trois fois du tissu adipeux blanc associée à une hypertrophie des adipocytes et une surexpression des gènes des protéines lipogènes C/EBP- α (CAAT enhancer binding protein α), PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ), SREBP-1C (sterol regulatory element binding protein-1C), de la LPL (lipoprotein lipase), FAS (fatty acid synthase) et SCD-1 (stearoyl-CoA desaturase). L'expression des gènes de la C/EBP- α (CAAT enhancer binding protein α), de la FAS (fatty acid synthase) et de la ACC (acetyl-CoA carboxylase) est aussi augmentée dans le foie des femelles exposées à PND21, sans changement significatif des taux de glucose et de lipides circulants. Après le sevrage, il y aurait une prédisposition dépendante du genre et du régime alimentaire à la surcharge pondérale chez les individus F1 exposés au BPA. Ainsi, aucune différence pondérale n'est observée entre les individus exposés et non exposés au BPA et nourris avec une alimentation standard alors que chez les individus exposés et nourris avec une alimentation riche en lipides, une surcharge pondérale de 7% est observée. Cette surcharge pondérale n'est pas associée à une augmentation de la prise de nourriture.

Miyawaki *et al.* ont étudié l'effet du BPA sur l'hyperlipidémie durant la gestation jusqu'à PND10, sur le développement de l'obésité chez la souris (Miyawaki *et al.*, 2007). Ce groupe a soumis des souris à (1 µg/kg pc/j) (faible dose = FD) ou 10 µg (2,5 µg/kg pc/j) (haute dose = HD) de BPA/mL

dans l'eau d'alimentation. Ils ont par la suite mesuré les changements anatomiques et physiologiques chez les PND31. Chez les femelles, ils ont noté que les mères ont eu une augmentation de poids corporel de 13% (FD) et 11% (HD) comparé au contrôle, la fraction du poids corporel de tissu adipeux a augmentée de 132% à faible dose, le cholestérol a augmenté de 33% (FD) et 17% (HD). Chez les mâles, le poids corporel a augmenté de 22% (LD) et 59% (HD) et le niveau de triacylglycérol a augmenté de 345% (LD) comparé au groupe contrôle. De par ces résultats, ils ont conclu que le BPA, durant la grossesse et en exposition post-natale durant la lactation, favorisait une hyperlipidémie et le développement d'obésité.

6.5.2.2 Exposition chez l'adulte

Alonso-Magdalena *et al.* ont étudié les effets du BPA sur le métabolisme du glucose chez la souris, en considérant les mères, durant la gestation, et les descendants F1 mâles (Alonso-Magdalena *et al.*, 2010). L'exposition a été effectuée par voie sous-cutanée aux jours de gestation GD9 à GD16 aux doses de 0, 10 et 100 µg/kg pc/j. Chez les mères, l'exposition au BPA accentue la résistance à l'insuline induite par la gestation à la dose de 10 µg/kg pc/j *versus* groupe contrôle et induit une tendance à augmenter la sensibilité à l'insuline à la dose de 100 µg/kg pc/j (non significatif à $p=0,05$), et diminue la tolérance au glucose à 10 µg/kg pc/j. Il provoque une augmentation dose-dépendante des taux plasmatiques de l'insuline à 10 µg/kg pc/j, de la leptine à 100 µg/kg pc/j, des triglycérides à 100 µg/kg et du glycérol à 100 µg/kg pc/j. A 10 µg/kg, le BPA entraîne une diminution du taux de forme phosphorylée de l'Atk¹⁵ stimulée par l'insuline dans le foie et l'abolit complètement dans le muscle squelettique gastrocnémien. Des effets à long terme sont aussi observés chez les mères, 4 mois après la mise bas, avec un poids corporel plus élevé et des concentrations supérieures en insuline, leptine, triglycérides et glycérol chez les individus traités au BPA.

¹⁵ Atk est une sérine-thréonine kinase impliquée dans le métabolisme du glucose activée par les phosphatidylinositol 3-phosphate-dépendante kinases PDK1 et PDK2. La PI3K est impliquée dans la voie de signalisation associée à la synthèse et la sécrétion d'adiponectine.

6.5.3 Études in vitro

Effets sur la lipogenèse

In vitro, le BPA à des concentrations comprises entre 100 pM et 1 µM induit l'adipogénèse chez les cellules préadipocytes de souris 3T3-L1 (Sargis *et al.*, 2010). Cette lipogenèse implique une voie d'activation médiée par les récepteurs glucocorticoïdes. Le BPA augmente la lipogenèse dans les adipocytes en voie de différenciation et active l'expression de protéines spécifiques des adipocytes (adiponectine, facteur de transcription CCAAT/enhancer binding protein α (c/EBP α), facteur induit lors de la phase terminale de l'adipogénèse). Toutefois, l'action du BPA sur l'induction de l'adiponectine présente une courbe en cloche avec un effet visible à partir de 10 nM et maximum à 100 nM qui disparaît à 1000 nM. Une relation dose-réponse identique est observée avec la dexaméthasone. Il est à noter que dans cette étude, les autres molécules étudiées, le dicyclohexyl phtalate, l'endrine, le tolylfluamide, la troglitazone et le triphényl étain présentent des effets moindres à la plus forte concentration de 1 µM.

Dans les études de Kidani *et al.*, les cellules 3T3-L1 ont été exposées à différents bisphénol (BP) : BPA, BPB, BPE et BPF aux concentrations 0, 20, 40 et 80 µM. D'une manière dose-dépendante, le BPA décroît la concentration d'adiponectine cellulaire et est sécrétée dans le milieu extracellulaire (Kidani *et al.*, 2010). Les formes de BP peuvent être classées de la façon suivante selon leur capacité à faire décroître la sécrétion d'adiponectine : BPB > BPA > BPE > BPF. Le BPA régule négativement la voie de signalisation Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K)-Atk, en induisant une baisse de l'expression de l'Atk et de la p-Atk.

Cependant, l'inhibition par le BPA de l'expression de l'adiponectine est à rapprocher des résultats obtenus par Sargis *et al.* montrant une relation dose-effet en cloche de l'action du BPA sur l'adiponectine (Sargis *et al.*, 2010). Les effets négatifs sur l'expression de l'adiponectine observés par Kidani *et al.* ne sont donc pas surprenants dans la mesure où ils se produisent à des concentrations supérieures à 1 µM (Kidani *et al.*, 2010). Ainsi, le BPA induirait l'expression d'adiponectine à faible dose et la réprimerait à fortes doses (qui sont déjà très faibles).

Asahi *et al.* ont conduit des études sur des hépatocytes non-parenchymateux en culture, les cellules NCTC Clone 1469 (Asahi *et al.*, 2010). Les cellules ont été exposées au BPA à des concentrations de 0, 1, 10, 50, 100 et 200 µM pendant 48h ou encore à la concentration de 100 µM pour une période de 120 heures, avec une analyse des effets du BPA à différents temps. Après avoir étudié la cytotoxicité du BPA à différentes concentrations, les études ont été poursuivies en exposant les cellules au BPA à la concentration de 100 µM. À cette concentration, le BPA induit une apoptose qui se traduit par une fragmentation de l'ADN, par une externalisation de la phosphatidylsérine sur le feuillet externe de la membrane plasmique, une augmentation de la caspase-12, de la protéine *GRP78/BiP* (impliquée dans l'homéostasie du réticulum endoplasmique) et du facteur de transcription *CHOP* (C/EBP homologous protein, un facteur de

transcription impliquée dans l'apoptose liée à un stress au niveau du réticulum endoplasmique) et une faible diminution de la protéine anti-apoptotique *Bcl-2*. Ces résultats suggèrent fortement l'implication du réticulum endoplasmique dans l'apoptose induite par le BPA. Les effets du BPA sont accompagnés d'un stress oxydant, avec une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) contrées par l'anti-oxydant N-acétylcystéine (N-AC). A la concentration de 100 µM, les effets du BPA ne semblent pas être médiés par les récepteurs aux œstrogènes ; les inhibiteurs 4-OHT et ICI des récepteurs aux œstrogènes ne préviennent pas la cytotoxicité du BPA et le 4-OHT l'accroît (Note : le 4-OHT présente un effet agoniste partiel sur les récepteurs aux œstrogènes).

Tableau IX : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur le métabolisme et le système cardiovasculaire

Référence	Espèces / souches	Voies	Dose Période d'exposition	Effets NOAEL/LOAEL
(Alonso-Magdalena <i>et al.</i> , 2010)	Souris	Sous-cutanée	0 - 10 et 100 µg/kg pc/j GD9 à GD16	<p><u>Chez les F1</u>, les mâles de 6 mois présentent une ↓ de la tolérance au glucose, une ↑ de la résistance à l'insuline, et une ↑ des taux plasmatiques d'insuline, de leptine, de triglycérides et de glycérol,</p> <p>une altération de la signalisation médiée par le calcium dans les îlots de Langherans</p> <p>↓ de l'incorporation de BrdU dans les cellules β sécrétrices d'insuline, alors que leur surface est inchangée</p> <p><u>Chez les mères</u>, ↑ la résistance à l'insuline induite par la gestation et ↓ la tolérance au glucose.</p> <p>↑ dose-dépendante des taux plasmatiques de l'insuline, de la leptine, des triglycérides et du glycérol.</p> <p>↓ le taux de forme phosphorylée de l'Atk stimulée par l'insuline dans le muscle squelettique gastrocnémien et dans le foie.</p> <p>4 mois après la mise bas ; poids corporel plus élevé, concentrations supérieures en insuline, leptine, triglycérides et glycérol</p>
(Ryan <i>et al.</i> , 2010b)	Souris CD-1	Orale	0,25 µg/kg pc/j GD0 à PND21	<p>Chez les F1, ↑ du poids corporel chez les mâles et les femelles à 3 semaines</p> <p>↑ de la longueur corporelle chez les mâles à 4 semaines, ces différences biométriques s'estompant à l'âge adulte.</p> <p>Aucun effet significatif n'est observé sur la tolérance au glucose</p>
(Somm <i>et al.</i> , 2009)	Rat Sprague Dawley	Orale	70 µg/kg pc/j GD6 - PND21	<p>A la naissance: traitement par BPA durant gestation ne modifie pas sex-ratio et taille des portées. Nouveau-nés (♀ et ♂) : ↑ poids</p> <p>PND21</p> <p>↑ poids des femelles</p> <p>Graisse paramétriale plus abondante et présente adipocytes hypertrophiés dans lesquelles gènes lipogéniques et ceux des enzymes lipogéniques surexprimés</p> <p>Dans foie, taux d'ARN augmenté de C/EBP-α, SREBP-1C, ACC et FAS k, Taux de glucose et de lipides circulants sont normaux.</p> <p>4 à 14 semaines : évolution du poids corporel des mâles BPA recevant alimentation standard semblable à celle témoins.</p> <p>↑ poids chez mâles exposés au BPA + régime riche en graisses,</p> <p>↑ poids chez femelles pour les 2 régimes testés. Chez mâles recevant régime riche en graisses, réponse au test de tolérance au glucose normale.</p>

				<u>Conclusion</u> : Exposition périnatale au BPA. ↗ adipogenèse au moment du sevrage chez ♀. Chez ♂ adultes, ↗ poids observée si régime riche en graisses.
--	--	--	--	---

6.5.4 Conclusion

Dans une étude transversale **chez l'Homme** (Melzer *et al.*, 2010), une corrélation a été observée entre les teneurs urinaires en BPA les plus élevées et des pathologies cardiovasculaires (maladies coronariennes) et le diabète. Le Groupe de Travail a considéré ces effets comme suspectés.

Chez l'animal, les études revues traitant des effets sur l'activité enzymatique, la croissance et le métabolisme suggèrent que les rongeurs exposés à l'âge adulte ou encore durant la gestation subissent des modifications au niveau du métabolisme des différents organes comme le foie, le tissu adipeux et le pancréas. De plus, quelques auteurs ont noté des changements dans l'expression des gènes codant pour des protéines intervenant dans les voies de signalisation cellulaire impliquées dans la lipogenèse et le métabolisme glucidique. Il se dégage une tendance montrant des effets *in vivo* sur la lipogenèse. Des études mécanistiques *in vitro* confortent ces observations.

Cependant, l'absence de répétabilité des effets rapportés ne permettent pas de confirmer les effets sur le métabolisme glucidique.

Ainsi, chez l'animal, le BPA induit une augmentation de la lipémie, une tendance à la surcharge pondérale et une activation de la lipogenèse. Les effets sur la lipogenèse suite à une exposition prénatale et périnatale ou chez l'adulte sont considérés comme avérés (données *in vivo* et *in vitro*). Les effets sur le métabolisme du glucose suite à une exposition prénatale et périnatale au BPA sont controversés.

- **Les modifications du métabolisme des lipides sont des effets à retenir pour l'évaluation des risques.**

6.6 Effets sur la thyroïde

Le panel d'experts réuni à Chapel Hill en 2007 mentionne un effet anti-thyroïdien du BPA (cf. travaux de Zoeller *et al.*, 2005) (Richter *et al.*, 2007).

Le NTP-CERHR indique également que le BPA interagissait avec les récepteurs aux hormones thyroïdiennes sur la base d'études *in vitro* (NTP-CERHR, 2008). Le BPA inhiberait la transcription médiée par les récepteurs aux hormones thyroïdiennes, l'action de la T3 (triiodothyronine) ou sa fixation aux récepteurs aux hormones thyroïdiennes. Le NTP-CERHR rapporte également les résultats de Zoeller *et al.* (2005) suggérant un effet antagoniste du BPA sur les récepteurs TR β (NTP-CERHR, 2008).

6.6.1 Données humaines

L'étude de Meeker *et al.* portant sur une population d'hommes consultant pour des problèmes de fertilité (n=167) montre une corrélation négative entre les concentrations urinaires (0,4 à 36,4 ng/mL) en BPA (moyenne géométrique de 1 à 3 prélèvements effectués) et les concentrations sériques en TSH au premier prélèvement. Des réserves peuvent être émises concernant cette étude. Premièrement, elle porte sur une population particulière d'hommes consultant pour des problèmes d'infertilité dans le couple. Deuxièmement, les aspects thyroïdes apparaissent comme « opportunistes », l'étude ayant été faite par rapport à une problématique de fertilité et le protocole ne prend pas en compte des particularités propres à l'exploration de la fonction thyroïdienne (existence d'un rythme nyctéméral, prise alimentaire, etc.). Enfin, le degré de signification de cette corrélation dépend du nombre de prélèvements urinaires inclus dans le calcul de la moyenne géométrique (de 1 à 3 pour chaque individu). Or, seulement 75 patients ont fait l'objet de prélèvements répétés. Si l'analyse porte sur la corrélation entre TSH et la seule mesure de BPA urinaire effectuée le jour du prélèvement sur l'ensemble des patients (n=167), ou entre TSH au premier prélèvement et la moyenne géométrique des concentrations en BPA sur les 3 prélèvements, limitée aux 75 patients ayant eu des prélèvements multiples, aucune corrélation significative ne peut être mise en évidence. Compte tenu de ces réserves, l'étude paraît difficilement recevable pour l'évaluation d'effets perturbateurs thyroïdiens du BPA chez l'Homme (Meeker *et al.*, 2010a).

6.6.2 Données chez l'animal

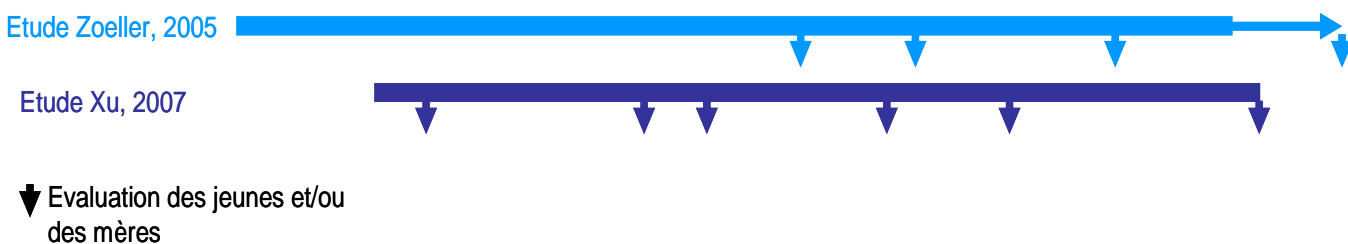
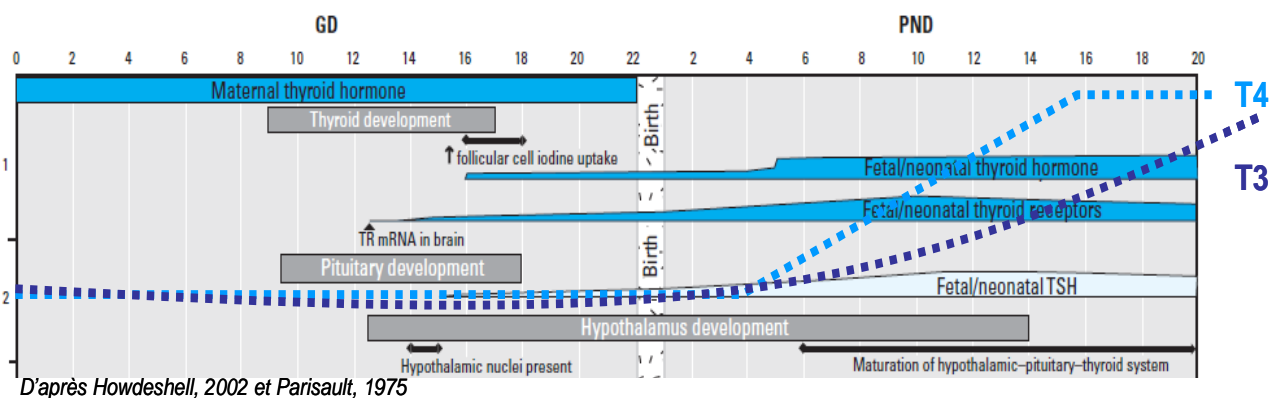
Une première étude a été réalisée chez le rat (Zoeller *et al.*, 2005). L'exposition au BPA a été initiée *in utero* (GD6) puis continuée sur l'ensemble de la période néonatale chez des rates par voie orale dans des biscuits appétents disponibles en quantité limitée pour assurer la consommation de la totalité de la dose (témoin négatif, 1 ; 10 ; 50 mg/kg pc/j). Les jeunes issus de ces mères ont été sacrifiés à PND4, 8, 15 et 35. Les résultats montrent, chez les jeunes, une

interaction entre l'âge des animaux et le traitement sur les concentrations sériques en T4 totale. Les concentrations sériques en T4 totale augmentent de façon physiologique entre PND4 et PND16 (Dussault et Labrie, 1975). Cette augmentation est nécessaire à la maturation du système nerveux central (Howdeshell 2002). Dans l'expérience de Zoeller, cette augmentation de T4 est plus importante chez les animaux (mâles et femelles) issus de mère traitées au BPA au PND15 (mais pas au PND8) comparé aux animaux issus de mères contrôles et ce, dès la plus faible dose (1 mg/kg pc/j) (Zoeller *et al.*, 2005). En revanche, l'exposition au BPA chez les mères n'a pas eu d'effet sur les concentrations sériques en TSH circulante mesurée à PND15 chez les mâles. Face à une augmentation des concentrations de T4, le mécanisme de feedback négatif se traduit normalement par une diminution des taux de TSH. L'absence de différence en TSH sérique concomitante de concentrations en T4 plus importantes chez les animaux issus de mères traitées au BPA conduit l'auteur à émettre l'hypothèse qu'il pourrait exister un défaut de rétrocontrôle négatif lié à un état de résistance aux hormones thyroïdiennes instauré chez les animaux exposés au BPA. Une telle hypothèse serait cohérente avec le mécanisme d'action supposé du BPA sur la fonction thyroïdienne, se traduisant par un effet antagoniste du BPA sur les récepteurs des HT conduisant à une diminution du rétrocontrôle négatif des HT sur les sécrétions de TRH et/ou TSH au niveau hypothalamo-hypophysaire. Toutefois, grâce au jeu des systèmes de transport spécifiques des HT, des modifications de T4 totale ne se traduisent pas nécessairement en termes de modification de la T4 libre bioactive. L'étude de Zoeller ne mesurant pas la T4 libre, il est difficile de conclure que cette étude révèle une inhibition de l'action des HT au niveau hypothalamo-hypophysaire (Zoeller *et al.*, 2005). Il semblerait en outre que certaines zones du cerveau aient été sensibles à cet état d'hyperthyroïdie, comme en atteste l'augmentation de l'expression de la neurogranine RC3 (protéine de l'arborisation dendritique des neurones dont l'expression est sous le contrôle des HT) dans le gyrus denté chez les jeunes mâles âgés de 15 jours issus de mères traitées au BPA. Le cortex, quant à lui, ne répond pas à cette augmentation de T4. D'après les études *in vitro*, le mécanisme d'action antagoniste des HT du BPA résulterait d'un recrutement plus important des co-répresseurs des récepteurs des HT. L'auteur suggère que l'effet antagoniste du BPA pourrait être « tissu-spécifique » et dépendrait notamment du niveau d'expression de ces corépresseurs dans les tissus cibles.

Cette étude présente d'excellentes garanties méthodologiques bien que les animaux aient été hébergés dans des cages en plastique et est basée sur l'utilisation d'une voie d'administration pertinente en matière d'analyse du risque pour la santé humaine (voie orale ingestion spontanée et dose inférieure au NOAEL).

Une autre étude a également été conduite chez la rate gestante (Xu *et al.*, 2007). Ces femelles ont été traitées au BPA dans l'eau de boisson aux doses de 0,1 et 50 mg/L de GD11 à PND21. Bien que les auteurs affirment avoir mesuré la consommation quotidienne d'eau, aucune information n'est donnée permettant d'estimer la dose ingérée par les animaux. Si on part d'une

consommation moyenne de 15 mL/100 g/j, on peut estimer grossièrement que les doses ingérées par les mères étaient inférieures 100 µg/kg pc/j (probablement autour de 15 à 20 µg/kg pc/j) pour la plus faible dose et 50 mg/kg pc/j (8 à 10 mg/kg pc/j) pour la plus forte. Les mères ont présenté une hypothyroïdie transitoire (concentrations sériques en T4 libre plus faibles) significative uniquement pour la plus faible dose à PND0 et PND7 (pas d'effet du BPA pendant la gestation ou après PND7). Chez les jeunes, des effets du BPA sur les concentrations sériques en T4 libre étaient significatifs uniquement chez les mâles. Une hyperthyroïdie a été notée à 7 jours de vie mais n'était significative que pour la dose la plus faible. Une hypothyroïdie a été observée pour la dose la plus forte à 21 jours. L'expression du gène de TRα et de la neurogranine RC3 dans l'hippocampe n'était pas modifiée chez les animaux traités y compris à PND15. Il est difficile de comprendre si l'auteur dissocie le gyrus denté de la corne d'Amon dans son analyse immunohistochimique de l'hippocampe, de sorte qu'il est difficile d'établir une comparaison directe avec l'étude de Zoeller *et al.* (Modifications d'expression de la neurogranine spécifique du gyrus denté) (Zoeller *et al.*, 2005).



Les barres bleues représentent les périodes d'exposition des mères en fonction des phases critiques de l'ontogénèse de la fonction thyroïdienne chez le rat représentée dans la partie supérieure du graphique.

Figure 6 : Présentation schématique des protocoles expérimentaux analysant l'effet d'une exposition développementale au BPA sur la fonction thyroïdienne des jeunes

Les deux seules études *in vivo* dont nous disposons chez des mammifères sont très difficilement comparables, non pas du point de vue des doses et des modalités d'administration, mais du point de vue des paramètres thyroïdiens étudiés : T4 totale et TSH pour Zoeller (Zoeller *et al.*, 2005) et

T4 libre pour Xu (Xu *et al.*, 2007). L'équilibre entre forme libre (bioactive) et liée d'une hormone est complexe et étroitement inféodé aux protéines de liaison spécifiques de ces hormones. Dans le cas de la T4, cette figure est d'autant plus complexe que plusieurs protéines de liaisons coexistent et que leur profil d'expression est régulé au cours du développement néonatal chez le rat, suggérant que la relation T4 libre/T4 totale pourrait être extrêmement variable en fonction du stade de développement. Les deux études concordent pour suggérer la possibilité d'une perturbation thyroïdienne transitoire au moment de la maturation de cette fonction chez le raton nouveau né (PND4 à 16) suite à une exposition in utero et néonatale. Cet effet consisterait en une amplification de l'augmentation physiologique de T4 chez les ratons issus de mères traitées. Cependant, la dynamique d'instauration de cet effet ainsi que les interactions avec le sexe des ratons diffèrent entre les deux études. Dans les deux cas, une augmentation de T4 circulante est observée en postnatal chez les ratons issus de mères exposées au BPA mais pas avant 8j (différence observée à 15 jours) chez les mâles et les femelles pour l'une (Zoeller) et dès 7 jours et uniquement chez les mâles pour l'autre (Xu) Ces deux résultats ne sont pas nécessairement antinomiques puisque les deux études ne mesurent pas la même chose (T4 totale constituée à plus de 70% de T4 liée à des protéines de transport spécifiques pour Zoeller vs. T4 libre pour Xu) (Xu *et al.*, 2007; Zoeller *et al.*, 2005). La TBG (Thyroxin Binding Globulin), protéine de liaison des hormones thyroïdiennes la plus efficace, est encore exprimée à ce stade chez les ratons. L'expression et la stabilité de cette TBG dans de nombreuses espèces sont modulées par les stéroïdes sexuels avec un effet positif des estrogènes et un effet négatif des androgènes. Bien que cela ne soit pas documenté chez le raton nouveau-né, on pourrait donc s'attendre à ce que les profils d'expression de la TBG diffèrent entre les sexes. Les femelles pourraient avoir des taux plus importants de TBG et l'augmentation de la capacité de liaison de la T4 qui en résulterait pourrait contribuer à ce que les effets exprimés sur la T4 totale ne se répercutent pas sur la T4 libre.

Les effets sur la fonction thyroïdienne peuvent être considérés comme suspectés.

Cependant, la question de la pertinence du modèle rongeur par rapport à l'Homme et plus particulièrement pour la période néonatale reste des plus critiques. Malheureusement, aucune donnée n'est disponible dans d'autres modèles animaux plus proches de l'Homme et la question d'un possible effet perturbateur thyroïdien du BPA reste, à ce jour, entière.

6.6.3 Données *in vitro* ou sur les amphibiens

6.6.3.1 Effets antagoniste des HT

- **Modèles cellulaires**

Le BPA agirait comme antagoniste des hormones thyroïdiennes et pourrait ainsi bloquer les effets de ces hormones. Le mécanisme mis en évidence à ce jour repose sur la liaison du BPA sur le récepteur des hormones thyroïdiennes qui potentialiserait l'interaction du récepteurs avec ses corépresseurs conduisant ainsi à une inhibition des effets des HT. Une étude complète a été réalisée explorant les capacités de liaison du BPA avec les récepteurs nucléaires des hormones thyroïdiennes et son mode d'interaction avec ces récepteurs. Le BPA peut déplacer la T₃ de ses sites de liaison sur extrait nucléaire d'hépatocytes de rat avec une constante d'inhibition de l'ordre de 200 µM (faible affinité). Il diminue la constante d'affinité de la T₃ d'un facteur 2 sans modifier les capacités de liaison maximale. Ces résultats suggèrent que le BPA serait un très faible compétiteur des HT vis-à-vis de leurs récepteurs. Ceci est confirmé par une étude réalisée sur des fractions nucléaires de la lignée hypophysaire de rat MtT/E-2 (Kitamura *et al.*, 2005) montrant que le BPA (10⁻⁸ à 10⁻⁴ M) ne permet pas de déplacer significativement la T₃ de ses sites de liaison.

Sur cellules rénales embryonnaires d'origine humaine (TSA 201) transfectées avec, soit le gène du TR α , soit le gène du TR β associés à un gène rapporteur, le BPA à des niveaux de concentrations de l'ordre de 1 microM est capable de diminuer la réponse transcriptionnelle de ces cellules induite par la T₃ pour les deux récepteurs. Des résultats similaires sont obtenus avec la lignée hépatocytaire humaine HepG2 exprimant naturellement les TRs. Cette étude indique par ailleurs que le BPA interviendrait en augmentant le recrutement du corépresseur des récepteurs aux HT, le N-cor (Moriyama *et al.*, 2002) expliquant l'effet antagoniste du BPA sur les effets des HT. Un modèle cellulaire de lignée de cellules rénales de singe (CV1) transfectées par le gène du récepteur bêta des HT+Luciférase, indique que le BPA ne présente d'effet qu'en présence d'HT et inhibe la réponse de ces cellules à la T₃. Ces effets s'expriment pour des concentrations en BPA de l'ordre de 10⁻⁴ à 10⁻⁵ M en concentration nominale dans les milieux de culture (Ghisari et Bonfeld-Jorgensen, 2005; Ghisari et Bonfeld-Jorgensen, 2009; Sun *et al.*, 2009). Ces résultats confirment que le BPA pourrait avoir un effet antagoniste des HT. Cependant, il convient de noter que les niveaux de concentrations associés à ces effets sont élevés (10⁻⁵ M soit approximativement 2,3 µg/mL, 100 fois les concentrations plasmatiques/sériques les plus hautes relevées chez l'Homme).

Le BPA inhibe la différenciation de précurseurs des oligodendrocytes murins induite par les HT *in vitro* via un mécanisme dépendant de TR β (Seiwa *et al.*, 2004). Cette étude pose clairement le problème du lien qui peut exister entre perturbation de la fonction thyroïdienne au cours du développement et ontogénèse du système nerveux central.

Globalement, les modèles cellulaires sus-cités produisent des résultats cohérents suggérant un potentiel du BPA comme agent antagoniste des effets des hormones thyroïdiennes

Toutefois, d'autres études réalisées notamment sur des lignées cellulaires d'origine hypophysaire conduisent à un résultat divergeant.

Le modèle de lignées cellulaires hypophysaires GH3 dont la croissance est dépendante des hormones thyroïdiennes, montre un effet potentialisateur du BPA sur l'effet de la T3 sur la croissance cellulaire (Ghisari et Bonfeld-Jorgensen, 2005).

Au bilan, l'effet antagoniste du BPA par rapport aux effets des HT (Hormones Thyroïdiennes) *in vitro* dépend du modèle cellulaire utilisé et en tout état de cause ne s'exprime qu'à des doses nominales relativement élevées.

- **Modèles d'amphibiens**

Des résultats cohérents avec l'hypothèse d'un effet antagoniste du BPA sont obtenus *in vivo* à partir de différents modèles d'amphibiens (ovocyte, xénope au stade métamorphique, têtard de xénope transgénique exprimant un gène rapporteur codant pour une protéine fluorescente sous le contrôle d'un promoteur portant un thyroid responsive element).

Ainsi, les effets du BPA à des doses de 0,1 à 10 μM (considérées comme pertinentes par rapport à l'exposition humaine), seul ou en coadministration avec la T3, indiquent que 60% des gènes dont l'expression est inhibée par le BPA dans l'intestin du têtard de xénope en pré-métamorphose sont des gènes sous contrôle positif de la T3 et que près de 50% de ceux dont l'expression est stimulée par le BPA sont sous contrôle négatif de la T3 (Heimeier *et al.*, 2009; Heimeier et Shi, 2010). Le BPA inhibe de façon importante le processus de métamorphose induit par la T3 à tous les niveaux (anatomie de la tête, disparition des branchies, croissance des membres,...) et ce, dès la plus faible dose de 0,1 μM . De même, le BPA (10^{-6} M) inhibe l'expression de GFP induite par la T3 de têtards de xénopes transgéniques (Fini *et al.*, 2007).

Les résultats concernant les effets du BPA sur la métamorphose des amphibiens en réponse à la T3 sont tous cohérents, quels que soient les paramètres étudiés (expression de protéines fluorescentes sur animaux transgéniques, dégradation de l'ADN dans la queue (Goto *et al.*, 2006) et se produisent pour des concentrations dans le milieu d'élevage de l'ordre de 1 μM . L'ensemble de ces résultats plaident en faveur d'un effet potentiel du BPA comme antagoniste des hormones thyroïdiennes chez les vertébrés inférieurs.

6.6.3.2 Effets sur les protéines de transport des HT

Les hormones thyroïdiennes dans la circulation sanguine sont prises en charge par des systèmes de transport extrêmement efficaces qui joueraient ainsi un rôle protecteur des HT vis-à-vis du catabolisme hépatique. Ces systèmes sont donc considérés comme des éléments clefs de maintien de l'homéostasie de la fonction thyroïdienne à tel point que les différences interspécifiques de ces systèmes de transport sont parfois utilisées pour réfuter les résultats obtenus dans les modèles rongeurs par rapport à leur pertinence pour l'Homme. Deux études suggèrent que le BPA ne serait pas un compétiteur des HT pour ces protéines qu'il s'agisse de la transthyréline (Meerts *et al.*, 2000) et/ou de la thyroxine binding globulin (Marchesini *et al.*, 2008). Une autre étude conduite chez la caille japonaise suggère toutefois que le BPA pourrait agir comme un compétiteur de la liaison de la T3 à des protéines transthyrélines, il serait néanmoins deux fois moins efficace que la T3 (Ishihara *et al.*, 2003). Une étude récente *in vitro*, s'est intéressée à la détermination des paramètres quantitatifs caractérisant la capacité de liaison du BPA aux trois protéines de transport des HT chez l'Homme (Albumine sérique, Transthyréline (TTR) et Thyroxin Binding globulin (TBG) (Cao *et al.*, 2011). Cette étude indique clairement que le BPA a la capacité de se lier aux trois types de protéines. Cette liaison se ferait avec une affinité équivalente à celle des HT pour l'albumine sérique qui constitue un système de transport non spécifique de faible affinité (constante d'affinité de l'ordre de 10^4 à 10^5 L/mol). En revanche, en ce qui concerne les protéines de transport spécifiques, les constantes d'affinités du BPA sont respectivement 300 et 3000 plus faibles que celles de la T4 pour la TTR et la TBG. Les auteurs en conclut donc qu'aux niveaux de concentrations sériques en BPA les plus fréquemment décrits chez l'Homme, le potentiel du BPA à interférer avec les systèmes de transport spécifique des HT est insignifiant.

6.6.3.3 Effets sur la sécrétion de TSH

Un modèle de culture hypophysaire d'amphibien suggère que le BPA pourrait inhiber la sécrétion de TSH induite par la CRH et ou la TRH et que cet effet serait additif du rétrocontrôle négatif exercé par T3 et T4 (Kaneko *et al.*, 2008). Cette étude est peu recevable pour les raisons suivantes : 1) quelle est la signification fonctionnelle chez les mammifères de la sécrétion de TSH induite par le CRH, 2) les concentrations auxquelles le BPA agit sont importantes (10^{-4} M) et peu compatibles avec les expositions internes obtenues *in vivo*. Il est à noter que Meeker s'appuie sur cette étude pour expliquer la corrélation négative qui existerait entre BPA urinaire et TSH chez des hommes (Meeker *et al.*, 2010a). Toutefois, il est difficilement envisageable que les concentrations urinaires en BPA total dans l'étude de Meeker (0,4 à 36,4 ng/mL) puissent résulter de concentrations plasmatiques suffisamment hautes (10^{-4} M soit 23 µg/mL) pour induire les effets hypophysaires décrits.

Tableau X : Tableau récapitulatif des études animales sur les effets du bisphénol A sur la thyroïde

Référence	Espèces	Voies	Dose Période d'exposition	Effets NOAEL/LOAEL
(Zoeller <i>et al.</i> , 2005)	Rat	Orale	1 - 10 - 50 mg/kg pc/j GD6 - PND35	interaction entre l'âge des animaux et le traitement sur les concentrations sériques en T4 totale ↗ de la concentration de T4 à PND15 Pas d'effet sur la concentration sérique de TSH ↗ de l'expression du gène de la neurogranine RC3
(Xu <i>et al.</i> , 2007)	Rat	Orale	Concentration estimée : <100 µg/kg pc/j et 8- 10 mg/kg pc/j GD11- PND21	Chez la mère, ↘ concentration sérique en T4 libre à PND0 et PND7 pour la faible dose Chez les F1 mâles, ↗ T4 libre à PND7 pour la plus faible dose et ↘ T4 libre à PND21 pour la plus forte dose Pas de modification de l'expression du gène Tra et neurogranine RC3

6.6.4 Conclusion

Les modèles expérimentaux suggèrent que le BPA pourrait agir comme antagoniste des HT en augmentant le recrutement de corépresseurs des récepteurs des HT. Les rares données *in vivo* dont nous disposons sur des modèles mammifères ne contredisent pas cette hypothèse mais ne sauraient en aucun cas la confirmer. Aucune donnée solide chez l'Homme ne permet à l'heure actuelle de soutenir l'hypothèse d'un effet du BPA sur la fonction thyroïdienne. Les études sur les interactions avec les systèmes de transports des HT suggèrent que ce mécanisme d'action est peu probable. En matière d'interaction possible entre BPA et fonction thyroïdienne, le seul constat qui peut être fait à l'heure actuelle est celui d'un manque de données. En conséquence, rien ne permet d'exclure ou d'affirmer que le BPA puisse agir comme un perturbateur thyroïdien aux doses auxquelles sont exposées les populations humaines.

Chez l'Homme, les données sont considérées comme limitées et peu conclusives car, d'une part, le protocole paraît peu adapté à une évaluation de la fonction thyroïdienne et, d'autre part, les effets observés (corrélation négative entre BPA et TSH) dépendent du modèle utilisé pour analyser les données (Meeker *et al.*, 2010a). Le groupe de travail ne peut conclure sur la base des données chez l'Homme.

Chez l'animal, les données sur la métamorphose des **amphibiens** en réponse à la T3 montrent un effet potentiel du BPA comme antagoniste des hormones thyroïdiennes chez ces vertébrés. Cet effet est considéré comme avéré chez l'amphibien et pourrait être expliqué par les mécanismes

décrits à partir des études *in vitro*. Si le modèle amphibien est utile en termes de criblage et d'étude des mécanismes d'action, il n'est toutefois pas adapté pour caractériser le danger chez l'Homme.

Chez **les rongeurs**, les données expérimentales reposent sur des approches relativement similaires (exposition développementales, voies orales en prise spontanée, ...) et tendent à montrer un effet du BPA sur la fonction thyroïdienne sur une période correspondant à la maturation finale de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien. **Les effets sur la thyroïde en lien avec une exposition néonatale au BPA sont suspectés chez les rongeurs.**

6.7 Effets sur le système immunitaire

Le BPA est classé sensibilisant cutané mais cliniquement, la prévalence reste faible. Les cas décrits se limitent aux industries et activités utilisant des résines époxydiques. Dans un rapport de 2003 un groupe d'experts du département « assessment of chemicals » du « Federal Institute for Risk Assessment (BfR) » a classé le BPA en catégorie B (solid-based indication for contact allergenic effects because of less frequency proven contact allergenic effect in humans taking into account existing positive animal data) (Schlede *et al.*, 2003).

De manière générale, le développement de la réponse immunitaire avec la prédominance des cellules Th2 prédispose les individus aux réactions pro-inflammatoires, allergiques, réactions atopiques et à l'asthme. Cette réponse immunitaire est la conséquence d'une programmation qui pourrait persister.

Selon le panel d'experts réuni à Chapel Hill en 2007, « le BPA modulerait la production des cytokines associées à la prolifération de lymphocytes Th1 et Th2 » et altérerait la production d'anticorps » (Richter *et al.*, 2007).

L'EFSA indique que l'étude de la modulation du système immunitaire associée au BPA est un champ d'investigations récent pour la recherche. Plusieurs études ont rapporté des modifications des teneurs en cytokines, des populations en lymphocytes T et d'autres effets immunomodulateurs. Cependant l'ensemble de ces études souffre de biais méthodologiques qui rendent leur interprétation difficile (EFSA, 2010). L'EFSA considère qu'en l'état actuel des connaissances ces données ne peuvent être utilisées pour fixer une DJT.

Le panel d'experts de la FAO/OMS indique également que plusieurs études *in vivo*, *ex vivo* ou *in vitro* selon des protocoles différents ont récemment investigué les effets du BPA sur le système immunitaire (FAO/OMS, 2010). Les résultats observés chez les rongeurs exposés *in utero* ou à l'âge adulte suggèrent un effet immunomodulateur du BPA (activité des cytokines, synthèse de l'acide nitrique par les macrophages, sécrétion de TNF- α , changement de la réponse immunitaire vers la prédominance des cellules Th2,...). Parmi ces études, plusieurs ont également recherché des effets sur le poids ou des altérations histologiques du thymus ou de la rate. Des modifications de la réponse immunitaire ont ainsi été observées en l'absence de lésions au niveau de ces organes. Ces résultats n'ont pas permis au panel d'experts de confirmer l'effet du BPA sur le système immunitaire. Des études complémentaires selon des protocoles standardisés seraient utiles mais le panel ne juge pas ce champ d'investigation prioritaire.

La littérature est limitée sur ce sujet et l'ensemble des publications disponibles a donc été examiné pour ce travail.

6.7.1 Données humaines

Une étude NHANES 2003-2006 a cherché des associations entre le BPA et les **allergies** (n=2133) et les **anti-corps anti- cytomégalo virus** (n=787) (Clayton *et al.*, 2011). Une association positive avec les anticorps anti-cytomégalo virus a été observée chez l'adulte et non chez l'enfant. Cependant, la portée et la causalité de cette relation restent incertaines. Aucune association entre BPA et allergie n'a été rapportée. De plus, les auteurs ont travaillé uniquement sur une population ayant des niveaux détectables de BPA urinaire. Cette méthode de sélection est discutable.

6.7.2 Données animales

6.7.2.1 Exposition prénatale et périnatale

En 2004, Yoshino *et al.* ont exposé des souris BDA/1 J, par gavage chaque jour pendant 18 jours à partir de l'accouplement, à 4 doses de BPA : 3, 30, 300 et 3000 µg/kg pc/j (Yoshino *et al.*, 2004). Seuls les souriceaux mâles ont été utilisés (5 animaux par groupe). L'article ne donne pas d'indication sur la manière dont l'effet de la portée a été pris en compte, ni d'information sur les cages et la nourriture. Cette étude ne comportait pas de contrôle positif.

Les résultats de cette étude montrent une augmentation de la réponse antigène-spécifique liée à la stimulation des Th1 et Th2 à la dose de 300 µg/kg pour la plupart des réponses et à 30 µg/kg pour l'anti-HEL IgG2 (Hen Egg Lysozyme). La stimulation des Th1 est supérieure à celle des Th2. Le nombre de cellules CD3+, CD4+ et CD8+ est augmenté dans les rates des souris exposées *in utero* au BPA.

En 2007, Ohshima *et al.* ont croisé des souris BALB/c avec des mâles transgéniques DO11.10 OVA-TCR-Tg¹⁶, et les ont exposé pendant la grossesse, (sans autre précision sur la période de traitement), et la lactation au BPA *via* la nourriture, à deux doses : 0,1 et 1 ppm de BPA (Ohshima *et al.*, 2007). Les souriceaux mâles hétérozygotes pour OVA-TCR-Tg ont été utilisés (1 mâle par portée, sélectionné au hasard, 6-8 animaux par groupe d'exposition). Ils ont reçu par intubation gastrique à l'âge de 14, 16 et 18 jours, 20 mg ou 0,2 mg d'ovalbumine. Un groupe n'a pas reçu d'ovalbumine. Ils ont ensuite été sacrifiés à 21 jours. Du sang a été collecté et la rate prélevée. La prolifération des cellules T spécifiques des antigènes, la production de cytokines et d'anticorps anti-ovalbumine ont été mesurées. Les expériences *in vitro* sur les cellules isolées sont répliquées 4-6 fois, les données des expériences sont regroupées pour chaque individu. Les

¹⁶ Souris transgéniques DO11.10 dont les cellules T portent le récepteur TCR qui reconnaît le fragment peptidique 323-339 de l'ovalbumine

auteurs ne donnent pas d'information sur les cages et la nourriture. Le BPA a été analysé par ELISA chez les mères et les F1 au jour postnatal 21 dans le groupe 1 ppm uniquement ($1,41 \pm 0,66$ ng/mL ($0,70 - 2,33$ ng/mL) et $3,971 \pm 2,40$ ng/mL ($0 - 6,74$ ng/mL), respectivement). Dans la plupart des expériences seul le groupe 1 ppm a été utilisé. Il n'y a pas de contrôle positif.

Les résultats de cette étude montrent que la prolifération cellulaire en réponse à une exposition orale à l'ovalbumine n'est pas modifiée chez les souriceaux exposés au BPA pendant la grossesse par rapport au souriceau non exposé. En revanche, une augmentation de la production par les splénocytes d'IL-4 et IL-13 et IFN- γ en réponse à l'ovalbumine est observée chez les souriceaux exposés à 1 ppm de BPA par rapport aux souriceaux non exposés au BPA. Ceci suggère que l'exposition au BPA *in utero* est en faveur de l'acquisition d'un profil de réponse à prédominance Th2. Après exposition orale à l'ovalbumine, les splénocytes des souriceaux préalablement exposés au BPA produisent plus d'IFN- γ et d'IL-13 que ceux des souriceaux non exposés au BPA. Les niveaux d'IgG1 et IgG2a sériques sont plus élevés chez les souriceaux préalablement exposés au BPA, suite à la stimulation *in vivo* par OVA (antigène oral).

Au final, cette étude montre que l'exposition *in utero* au BPA peut agir sur les mécanismes d'induction de la tolérance à des antigènes oraux.

Dans l'étude de Yan, des souris BALB/c et C57BL/6 (souche résistante à *Leishmania major*) ont été traitées 2 semaines avant l'accouplement, et ensuite 1 semaine pendant la grossesse par de l'eau potable contenant du BPA à 3 doses : 1, 10 et 100 nM ; les doses reçues ont été estimées à 0,07 ; 0,7 et 7,0 nmol, la dose de 100,0 nM correspondant à un apport de 3 μ g/kg pc/j (Yan *et al.*, 2008). Seuls les souriceaux mâles exposés *in utero* ont été exposés à l'âge de 10 semaines à *Leishmania major* (entre 3 et 4 animaux par groupe). L'article ne donne pas d'indication sur la manière dont l'effet de la portée a été pris en compte. Les cages sont en TPX polyméthylpentène), les bouteilles en verre, la nourriture est standard (FR-2 de Funabashi Farm, Japan) et il n'y a pas de contrôle positif.

Les résultats de cette étude montrent une réaction accrue et dose-dépendante à l'infection par *Leishmania major* et une augmentation de la production des cytokines (INF- γ ¹⁷, IL-4¹⁸) à l'âge adulte chez les souris mâles exposés *in utero*, suite à l'induction des Th1 et Th2, dans les groupes 10 et 100 nM. Le pourcentage de CD4+ et CD25+ est en revanche diminué. Des modifications du système immunitaire en lien avec une exposition au BPA chez les souris adultes ont également

¹⁷ Indicateur de la réponse médiée par Th1

¹⁸ Indicateur de la réponse médiée par Th2

été observées dans cette étude; elles sont décrites dans la section suivante. Selon les auteurs, l'exposition au BPA *in utero* pourrait en théorie entraîner un risque d'allergie et d'asthme (Yan *et al.*, 2008).

Enfin, Holladay *et al.* ont injecté par voie IP du BPA à la dose de 1 mg/kg pc/j à des souris gestantes de GD9,5 à la fin de la lactation. La production de cytokines a été évaluée chez les descendants mâles à 20 semaines (Holladay *et al.*, 2010). Une augmentation de la production de cytokines est rapportée par les auteurs. Cette étude a cependant été rejetée à cause du nombre de portées trop limité par groupe (n=2 pour groupe contrôle et n=3 groupe BPA).

En résumé, chaque étude présente des défauts mais dans l'ensemble, il existe une cohérence parmi les résultats observés.

L'étude de Miao *et al.* a examiné l'effet du BPA du jour GD0 au jour PND30 par voie orale (gavage) aux doses 4, 40 et 400 mg/kg pc/j sur l'expression de l'ARN des cytokines dans la rate (Miao *et al.*, 2008). Les auteurs démontrent une diminution dose-dépendante de l'expression des cytokines IL-2, IL-12, INF- γ et TNF- α chez les petits et chez les parents. Le nombre d'animaux par groupe est de 10. Les différences significatives ont été observées dans tous les groupes incluant la concentration la plus basse (4 mg/kg pc/j).

Midoro-Horiuti *et al.* a examiné, chez les souris BALB/c, l'effet de l'exposition au BPA par l'eau potable (5 ou 10 $\mu\text{g/mL}$, ce qui correspond à des concentrations de 10^{-8} à 10^{-7} M dans les tissus des nouveau-nés) durant toute la gestation et la lactation sur la réponse à l'antigène OVA à dose « suboptimale » et l'inflammation/hyperréactivité bronchiale (Midoro-Horiuti *et al.*, 2010). Chez les souriceaux exposés au BPA, la réponse à l'OVA s'est traduite en une augmentation significative des l'IgE, une inflammation éosinophilique des voies respiratoires et de l'hyperréactivité des voies respiratoires. Cette étude démontre l'implication possible du BPA dans le développement des allergies et de l'asthme. Il s'agit d'une étude d'excellente qualité.

6.7.2.2 Exposition chez l'adulte

Dans l'étude de Yan déjà citée ci-dessus, les souris BALB/c et C57BL/6 (souche résistante à *Leishmania major*) ont été traitées par voie sous-cutanée à du BPA à des doses de 5,7 ; 11,4 ; 22,8 et 45,6 mg/kg pc/j pendant 1 semaine et ont ensuite été infectées par *Leishmania major* (Yan *et al.*, 2008). Les résultats de cette étude montrent une réaction accrue et dose-dépendante à l'infection par *Leishmania major* et une augmentation de la production des cytokines (IL-4, IL-10 et IL-13) mais pas INF- γ . Le pourcentage de CD4+ et CD25+ est en revanche diminué. Les modifications du système immunitaire en lien avec une exposition au BPA chez les souriceaux exposés *in utero* étaient plus importantes que celles observées chez les souris adultes.

L'étude de Goto *et al.* utilise les souris transgéniques exprimant le récepteur spécifique à la protéine OVA (Goto *et al.*, 2007). L'exposition au BPA se fait par la voie orale *via* l'eau *ad libitum* pendant 2 semaines. La concentration du BPA est de 10 mg/L ce qui correspond à environ 1,5-1,8 mg/kg. Les cellules T ont été mises en culture et la production des cytokines et la prolifération ont été étudiées en réponse à l'antigène. Selon les auteurs, le BPA réduit la sécrétion des IL-2 et IL-4 et de l'INF- γ et augmente la sécrétion des IgA et IgG2a. Sous conditions de l'administration de l'antigène, le BPA augmente la production de l'INF- γ par les cellules T et modifie les cellules qui présentent l'antigène (antigen presenting cells) qui agissent sur les cellules T en supprimant la production des cytokines. Une des limites de l'étude est le faible effectif des sujets (n=3) dans chaque expérience.

6.7.3 Données in vitro

Yang *et al.* ont étudié, par des techniques de protéomique, l'effet de BPA administré dans l'eau de boisson à des doses de 15 et 300 mg/L correspondant à des expositions moyennes de 8,9 mg/kg pc/j et 171 mg/kg pc/j chez des souris à partir du 7^e jour de gestation (GD7) et jusqu'à la fin de la lactation (PND21) soit une durée d'exposition totale de 34 à 36 jours (Yang *et al.*, 2008). L'analyse des protéines du thymus et de la rate des souriceaux a montré que 7 d'entre elles étaient sur- ou sous-exprimées de manière dose dépendante (uniquement 2 doses). Cette étude présente surtout l'intérêt d'identifier des biomarqueurs (apo-A1, DPPIII et VAT1) qui pourraient être utilisés pour quantifier l'exposition du système immunitaire au BPA. La relation qui pourrait exister entre la nature des protéines dont l'expression est modulée et la réponse du système immunitaire reste pour le moment très incertaine.

L'étude de Guo *et al.* confirme le potentiel du BPA à moduler l'interaction entre les cellules dendritiques (impliquées dans la réponse immunitaire acquise par la présentation de l'antigène aux cellules T) et les cellules T, et d'orienter la réponse immune vers un profil de type Th2 (Guo *et al.*, 2010). Les auteurs ont démontré sur un modèle de cellules dendritiques dérivées de monocytes (Mo-DCs) que la présence de BPA (0,1 μ M) n'affecte pas la maturation des cellules dendritiques mais induit une augmentation de la sécrétion d'IL-10 et d'IL-12p70. La capacité d'activation de lymphocytes T naïf par ces Mo-DCs a été examinée et il a pu être mis en évidence une production dose dépendante (0,001-0,1 μ M) des cytokines associées à un profil Th2 en présence de BPA et de TNF- α .

Tableau XI : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur le système immunitaire

Références	Espèces / souches	Voies	Dose Période d'exposition	Effets NOAEL/LOAEL
(Yan <i>et al.</i> , 2008)	Souris BALB/c et C57BL/6	Orale	1 - 10 et 100 nM, soit 0,07 - 0,7 et 7,0 nmol, la dose de 100 nM correspondant à un apport de 3 µg/kg pc/j 2 semaines avant l'accouplement et ensuite 1 semaine pendant la gestation	Réaction accrue à l'infection par <i>Leishmania major</i> ↗ de la production des cytokines (INF-γ, IL-4) à l'âge adulte chez les souris mâles exposées <i>in utero</i> , suite à l'induction des Th1 et Th2, dans les groupes 10 et 100 nM.
		Sous-cutanée	5,7 - 11,4 - 22,8 et 45,6 mg/kg pc/j 1 semaine chez l'adulte	↗ de la réaction dose-dépendante à l'infection par <i>Leishmania major</i> ↗ de la production des cytokines (IL-4, IL-10 et IL-13) mais pas INF-γ. ↘ du pourcentage de CD4+ et CD25+
(Yoshino <i>et al.</i> , 2004)	Souris BDA/1 J	Orale	3 - 30 - 300 et 3000 µg/kg pc/j GD0 - GD18	↗ de la réponse antigène-spécifique lié à la stimulation des Th1 et Th2 à 300 µg/kg pour la plupart des réponses et à 30 µg/kg pour anti-HEL IgG2.
(Ohshima <i>et al.</i> , 2007)	Souris femelles BALB/c croisées avec des souris mâles transgéniques DO11.10 OVA-TCR-Tg	Orale	0,1 et 1 ppm exposition prénatale et pendant la période de lactation	Pas de prolifération cellulaire en réponse à l'exposition d'ovalbumine, ↗ de la production d'IL-4 et IL-13 et IFN-γ par les splénocytes en réponse à l'ovalbumine à la dose de 1ppm ↗ production d'IFN-γ et d'IL-13 par les splénocytes après exposition orale à l'ovalbumine ↗ <i>in vitro</i> de la réponse des cellules T, changement clonal des cellules T (n'induit pas l'accumulation des CD4+CD25+) ↗ des IgG1 et IgG2a, suite à la stimulation <i>in vivo</i> par OVA (antigène oral)
(Miao <i>et al.</i> , 2008)	Rat F344	Orale	4 - 40 - 400mg/kg pc/j GD0 - PND30	↘ dose-dépendante de l'expression des cytokines IL-2, IL-12, INF-γ et TNFα chez les petits et chez les parents LOAEL = 4mg/kg pc/j
(Midoro-Horiuti <i>et al.</i> , 2010)	Souris BALB/c	Orale	5 - 10 µg/mL 1 semaine avant la gestation - sevrage	↗ significative des l'IgE inflammation éosinophilique des voies respiratoires et des l'hyper-réactivité des voies respiratoires après sensibilisation
(Goto <i>et al.</i> ,	Souris transgéniques	Orale	1,5 -1,8 mg/kg environ	↘ de la secretion des IL-2 et – 4 et de l'INF-γ et ↗ de la sécrétion des IGA et

2007)	exprimant le récepteur spécifique à la protéine OVA		2 semaines (souris âgées de 8 à 15 semaines)	IgG2a Après administration de l'antigène, ↗ de la production de l'IFN-γ par les cellules T et modification des cellules qui présentent l'antigène (antigen presenting cells) qui agissent sur les cellules T en supprimant la production des cytokines.
-------	---	--	--	--

6.7.4 Conclusion

En conclusion, chez l'Homme, une association positive avec les anticorps anti cytomégalo virus a été observée, mais la portée et la causalité de cette réaction restent incertaines. La seule étude disponible traitant des effets du BPA sur le système immunitaire ne permet donc pas de conclure.

Chez l'animal, l'induction des lymphocytes T accompagnée de la surproduction des cytokines est considérée comme un effet avéré. Le déplacement de la réponse immunitaire observée est plutôt en faveur des Th2

A ce stade l'extrapolation de ces observations chez l'Homme n'est pas connue.

6.8 Effets sur l'intestin

6.8.1 Données humaines

Chez l'Homme, aucune étude n'a été identifiée.

6.8.2 Données chez l'animal

Braniste *et al.* ont étudié l'impact du BPA sur la fonction de barrière intestinale chez des femelles ovariectomisées et chez des jeunes rats après exposition périnatale (Braniste *et al.*, 2010). Les expérimentations ont été menées sur deux lots d'animaux.

Le premier lot d'animaux correspondait à des femelles rates Wistar ovariectomisées (5 à 15 femelles) nourries par un aliment standard et recevant par gavage du BPA dans l'huile de maïs pendant 15 jours (0, 0,05 et 5 mg/kg pc/j ; témoin positif : 0,6 mg/kg d'œstradiol benzoate dans l'huile de maïs). Au cours des 5 derniers jours d'administration, les animaux ont été traités avec un antagoniste des oestrogènes par injection sous-cutanée quotidienne de 2 mg/kg d'un antagoniste ER (ICI 182.780) dans différents groupes de rats recevant du BPA à 5 mg/kg pc/j et dans le groupe traité avec de l'œstradiol benzoate. A noter que l'ovariectomie a été conduite afin de s'affranchir du niveau de base en estrogène. Une étude dose-réponse de la perméabilité intestinale a également été réalisée sur la base de 5 doses de BPA (0,5 µg à 5 mg/kg pc/j) administrées par voie orale pendant 15 jours chez des rates ovariectomisées (Braniste *et al.*, 2010).

Un autre lot d'animaux (8-13 rates) a été traité quotidiennement par du BPA par gavage 5 mg à partir de GD15 jusqu'au sevrage en PND21. Au sevrage, les petits ont été nourris par l'aliment standard.

Des mesures de la perméabilité intestinale (chambre de Ussing) et de l'inflammation digestive (mesure de myeloperoxidase MPO) et de la cytokine pro-inflammatoire MIF (macrophage migration inhibitory factor) ont été effectuées sur la descendance à l'âge adulte (PND70). La sensibilité à la douleur viscérale a également été mesurée par électromyographie chez les rates ovariectomisées soumises à une distension colorectale (la distension colorectale induit des contractions abdominales et cette réponse viscéro-motrice a été utilisée pour estimer la douleur viscérale).

Cette étude a montré une diminution de manière dose-dépendante (sur la base de 5 doses testées de BPA) de la perméabilité intestinale chez les femelles ovariectomisées, avec une dose permettant 50% de l'inhibition maximale de 10 µg/kg pc/j. Cet effet, analogue à celui produit par les œstrogènes, est tributaire d'un resserrement des jonctions serrées de l'épithélium intestinal et passe par une action sur ERβ. Toujours chez l'adulte, le BPA, à la dose de 5 mg/kg, réduit la sévérité de l'inflammation digestive provoquée par l'administration intracolique de TNBS (acide

trinitrobenzene sulfonique) mais augmente la sensibilité à la douleur viscérale. Il a précédemment été montré que l'estradiol affecte la perméabilité épithéliale de l'intestin (Braniste *et al.*, 2009), mais agit également sur la réponse inflammatoire et la douleur viscérale. L'activité estrogénomimétique du BPA est observée sur ces 3 paramètres, la perméabilité intestinale étant le plus sensible (LOEL = 5 µg/kg pc/j).

Chez les rats dont la mère a été traitée à la dose de 5 mg/kg (exposition périnatale), on observe uniquement chez les femelles des portées, une diminution de la perméabilité intestinale et une augmentation de la réponse inflammatoire à l'âge adulte.

A noter qu'une étude sur cellules cancéreuses de colon a montré un effet antagoniste du BPA sur l'apoptose des cellules (Bolli *et al.*, 2010). Cette inhibition de l'apoptose est également observée avec l'œstradiol.

Tableau XII : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur l'intestin

Référence	Espèces	Voies	Dose Période d'exposition	Effets NOAEL/LOEL
(Braniste <i>et al.</i> , 2010)	Rat Wistar adulte ovariectomisé	Orale	0 - 0,05 - 5 mg/kg pc/j administré pendant 15 jours à l'âge adulte	<u>0,05 et 5 mg/kg</u> : ↘ dose-dépendante perméabilité intestinale (effet, analogue à celui produit par œstrogènes, tributaire d'un resserrement des jonctions serrées de l'épithélium intestinal). <u>5 mg/kg</u> : ↘ sévérité inflammation digestive et ↗ sensibilité à douleur viscérale.
	Rat Wistar	Orale	5mg/kg pc/j administré de GD15 à PND21 Examen de la descendance à l'âge adulte (PND70)	Mesures de la perméabilité intestinale, de l'inflammation digestive et de la cytokine pro-inflammatoire MIF effectuées sur la descendance à l'âge adulte (PND70) <u>5 mg/kg</u> : ↘ de perméabilité intestinale et ↗ de réponse inflammatoire (observée chez les ♀ uniquement).

6.8.3 Conclusion

Chez l'Homme, aucune étude n'a été identifiée.

Chez l'animal adulte ayant subi un traitement aigu au BPA, les effets pro nociceptifs et anti-inflammatoires du BPA sont du même type que ceux produits par l'œstradiol et passeraient par une action sur les récepteurs aux estrogènes. En revanche, chez des animaux issus de mères traitées, un effet pro-inflammatoire est observé dans la descendance femelle et passerait par un défaut de maturation du système immunitaire. **L'effet du BPA sur l'inflammation et la perméabilité intestinale est suspecté (une seule étude) chez l'animal.**

6.9 Effets sur la prostate

Le NTP-CERHR, dans son rapport de 2008, précise que les données disponibles ne sont pas suffisantes pour considérer le BPA comme un composé cancérigène sur la prostate chez le rongeur, ni que le BPA présente un danger pour l'homme vis-à-vis de la prostate, mais préconise la conduite d'études complémentaires afin de clarifier les effets du BPA sur le développement de la prostate et du tractus urinaire (NTP-CERHR, 2008).

En 2010, le panel d'experts FAO/OMS a considéré que les études classiques de cancérogenèse du BPA chez les rongeurs à des doses de l'ordre de 75 à 150 mg/kg pc/j ne montraient pas d'effets ou des effets très faibles. Cependant le panel s'interroge si, en raison de l'absence d'exposition des animaux pendant la période prénatal, le potentiel cancérigène du BPA a été correctement investigué dans ces études. En effet, certaines études montrent qu'une exposition périnatale au BPA (à des doses orales allant de 10 à 250 µg/kg pc/j) pouvait entraîner des métaplasies squameuses de l'épithélium prostatique des F1. Une exposition au BPA pendant des fenêtres particulières de susceptibilité pourrait avoir un effet sur le développement de la prostate et la rendre plus susceptible à l'apparition de lésions néoplasiques ou pré néoplasiques consécutives à une exposition à des agents initiateurs ou promoteurs de tumeurs puissants (FAO/OMS, 2010). Ces études souffrent cependant de faiblesses dans leur protocole qui en limitent l'interprétation. Il indique par ailleurs qu'une étude de cancérogenèse chez le rongeur est en cours au NTP. Les expositions par voie orale débuteraient dès la période de vie fœtale. Un suivi des doses internes de BPA libre et conjugué est prévu.

L'Inserm considère que la période fœtale ou néonatale semble constituer une période critique au cours de laquelle une exposition au BPA pourrait altérer le développement de la prostate et favoriser l'apparition de lésions cancéreuses (avec des doses de 10 à 20 µg/kg pc/j) (Inserm, 2011). La survenue de cancers hormonodépendants (sein ou prostate), de type carcinome, semble être favorisée par une altération, due au BPA, dans le développement de l'organe.

Trois aspects seront abordés successivement: l'hypertrophie, les lésions pré-néoplasiques et le cancer de la prostate. L'objectif de cette analyse est d'évaluer avant tout la pertinence des effets observés en termes d'effets néfastes et la transposition de ces effets, observés chez l'animal, à l'homme.

La problématique des xénobiotiques ayant des propriétés hormonales (regroupés sous le terme générique de perturbateurs endocriniens) s'est intéressée à la glande prostatique de par sa dépendance hormonale pour son développement et sa croissance dans des conditions physiologiques et pathologiques.

C'est dans ce contexte que l'équipe de Vom Saal est l'une des premières à s'être intéressée aux effets du bisphénol A sur la prostate. Cette équipe travaillait depuis 1975 sur l'implication des hormones stéroïdiennes au cours de la vie foetale et de la reproduction chez la souris (gestation, comportement et développement sexuel). En 1993, Vom Saal est co-auteur avec Soto et Colborn d'un texte (Colborn *et al.*, 1993) considéré comme fondateur du concept "perturbateur endocrinien", élaboré dans le cadre des travaux réalisés au sein de la W. Alton Jones Foundation et du World Wildlife Fund, ainsi que de la revue exprimant l'opinion du panel réuni à Chapel Hill en 2007 sur le BPA (vom Saal *et al.*, 2007).

6.9.1 Hypertrophie de la prostate

- **Données chez les rongeurs**

C'est en 1997 qu'est publiée la première référence associant l'exposition (prénatale) de souris (CF1) à des estrogènes naturels (œstradiol) ou à des xénobiotiques ayant des propriétés œstrogéniques (DES) et le développement de la prostate (vom Saal *et al.*, 1997). L'exposition des femelles gestantes au DES à des doses variant entre 0,02 et 2,0 µg/kg pc/j induit une augmentation du poids de la prostate à l'âge adulte (8 mois). Cette augmentation de volume et de poids est la conséquence d'une hyperplasie.

La même année, la même équipe montre que l'exposition prénatale par voie orale à du BPA à des doses de 2 et 20 µg/kg pc/j induit, chez la souris (CF1) âgée de 6 mois, une augmentation du poids de la prostate de 30 et 35% respectivement (Nagel *et al.*, 1997). En 2005, ces auteurs, en utilisant un protocole similaire d'administration prénatale au BPA (10 µg/kg pc/j), observent chez la souris (CF1) et à la naissance une prolifération de l'épithélium des canaux primitifs de la glande prostatique, se traduisant par une augmentation du nombre de ces canaux dans la partie dorso latérale et du volume global de la glande encore peu différenciée (Timms *et al.*, 2005). Selon les auteurs, ces doses devraient être prises en considération dans les calculs d'évaluation de risque, d'autant qu'elles seraient compatibles avec les niveaux d'exposition des populations humaines.

Ces observations n'ont cependant pas été reproduites par d'autres auteurs. Ashby *et al.* ont exposé des souris gestantes (CF1) à du BPA à des doses de 2 et 20 µg/kg pc/j et les souriceaux ont été sacrifiés puis examinés à 6 mois d'âge (Ashby *et al.*, 1999). Cagen *et al.* ont exposés des souris gestantes (CF1) à du BPA à des doses de 0,2, 2, 20 et 200 µg/kg pc/j et les souriceaux ont été sacrifiés puis examinés à 3 mois d'âge (Cagen *et al.*, 1999a). Cagen *et al.* ont exposés des rats (Wistars) femelles à du BPA dans l'eau de boisson (à des doses de 0,01 ; 0,1 ; 1 et 10 ppm) depuis la 10^{ème} semaine de vie post-natale jusqu'à l'accouplement avec des mâles non exposés, et poursuivi l'exposition pendant la gestation et l'allaitement (Cagen *et al.*, 1999b). Les ratons mâles, non exposés par la suite, ont été sacrifiés à 90 jours de vie. Aucune modification du poids

de la prostate (absolu et relatif, c'est-à-dire par rapport au poids corporel) ou d'anomalie morphologique n'a été constatée dans chacune de ces études.

Tyl *et al.*, au cours d'une étude sur trois générations chez le rat (SD) exposés à des doses de 0,001, 0,02, 0,3, 5, 50, ou 500 mg/kg pc/j de BPA, n'observent pas de modification du poids (absolu et relatif) de la prostate à l'âge adulte (Tyl *et al.*, 2002). Les mêmes auteurs au cours d'une étude sur deux générations chez la souris (CD1) exposées à des doses de 0,003, 0,03, 0,3, 5, 50, ou 600 mg/kg pc/j de BPA n'observent pas de modification du poids (absolu et relatif) de la prostate (lobe ventrale, lobe dorso laterale) à l'âge adulte A (Tyl *et al.*, 2008).

Chitra, au cours d'une étude exposant des rats (Wistar) à l'âge adulte par voie orale au BPA pendant 5 semaines à des doses de 0,2 ; 2 ; 20 µg/kg pc/j, a mis en évidence notamment une augmentation significative du poids relatif de la prostate ventrale ceci de manière dose-dépendante (cf. également le chapitre 6.2.2.4) (Chitra *et al.*, 2003).

Herath *et al.* ont étudié aussi les effets du BPA, chez le rat (Wistar), au cours de la même période d'exposition, exposition du jeune adulte (J52) au BPA pendant 5 semaines, mais par une autre voie d'administration (sous-cutanée) et en utilisant une dose de 3000 µg/kg pc/j (Herath *et al.*, 2004). Ainsi, les auteurs observent également une augmentation du poids relatif de la prostate ventrale.

Récemment, Wu *et al.* en utilisant un modèle expérimental basé sur l'administration de testostérone puis de BPA à des rats (SD) adultes préalablement castrés chirurgicalement observent une augmentation du poids de la prostate pour des doses de 0,01 mg/kg pc/j de BPA pendant 4 semaines (Wu *et al.*, 2011). Cette augmentation cesse d'être observée à des doses de 0,03 mg/kg pc/j et de 0,09 mg/kg pc/j.

Au-delà du débat soulevé par les méthodologies, par la non-reproductibilité des résultats et par les éventuelles relations dose-effet non-monotones, on peut s'interroger sur les implications pathologiques de l'augmentation de la taille de la prostate (hyperplasie) et de la transposition des effets observés chez l'animal à l'homme.

- **Extrapolation à l'Homme : éléments d'interprétation**

Chez l'homme, l'hypertrophie de la prostate est une tumeur bénigne correspondant à une hyperplasie fibro-musculaire et glandulaire (adénomyofibrome). Elle se produit par multiplication du nombre (hyperplasie) et du volume (hypertrophie) des cellules de la glande. Cette pathologie se développe avec l'âge, en particulier au cours du climatère masculin, traduisant la dépendance hormonale de la croissance de la glande. La principale répercussion clinique est la pollakiurie

(besoin anormalement fréquent d'uriner). Aucun facteur de risque, hormis l'âge, n'a été clairement établi à ce jour. Dans l'état actuel des connaissances, l'hypertrophie bénigne de la prostate ne constitue pas un facteur de risque établi de survenue d'un cancer de la prostate chez l'homme (Miller et Torkko, 2001).

Chez le rongeur, la prostate se différencie principalement après la naissance alors que chez l'homme, cette étape se déroule au cours de la vie intra-utérine.

Les travaux précédemment cités chez les rongeurs décrivent une augmentation du poids de la prostate de l'ordre de 30-35%. Cette augmentation est modeste par rapport à celles constatées chez l'homme en cas d'hypertrophie de la prostate (100, 200, jusqu'à 1000%).

Tout d'abord, les rongeurs naissent dans un état relativement immature comparé aux humains et leur développement se poursuit après la naissance. Pour induire des effets développementaux similaires, l'exposition devra s'effectuer en période néonatale chez le rongeur et prénatale chez le fœtus. Le nouveau-né rongeur serait ainsi plus vulnérable à cette exposition que le fœtus encore protégé par la barrière placentaire. Par exemple, la **différentiation de la prostate** survient autour de la naissance chez les rongeurs (majoritairement après la naissance), alors qu'elle a lieu pendant la vie-intra utérine chez les humains. Ensuite, contrairement à l'homme et le chien, les rongeurs ne développent pas de manière spontanée des hypertrophies de la prostate. Bien au contraire, leur prostate a tendance à s'atrophier avec l'âge (Maini *et al.*, 1997). Cela traduit une différence de la composition du milieu hormonal et des processus de régulation entre espèces au regard des signaux stimulant le développement de la prostate.

6.9.2 Lésions pré-neoplasiques

Dans une première étude, Ho *et al.* administrent de l'œstradiol (0,1 µg/kg pc) ou du BPA (10 µg/kg) par voie sous-cutanée en postnatal, aux jours 1, 3 et 5, chez 20 à 30 rats par groupe (Sprague-Dawley, SD) (Ho *et al.*, 2006). Pour la moitié des animaux traités par l'œstradiol ou par le BPA et à l'âge de 90 jours (traitement à 90 jours), l'œstradiol, connu pour sa capacité à induire un processus tumoral prostatique dans un tiers des rats SD, est administré (concentration finale de 75 pg/mL dans le sang) ainsi que de la testostérone (concentration finale de 3 ng/mL dans le sang) afin de prévenir le feedback hypothalamo-testiculaire résultant dans une involution de la prostate induit par l'œstradiol seul. Les animaux ont été sacrifiés à l'âge de 28 semaines (~ 6 mois) et la prostate examinée.

L'administration de BPA en postnatal, sans traitement à 90 jours par le mélange œstradiol associé à la testostérone, n'induit aucune modification sur la prostate, qu'il s'agisse du poids de la prostate ou la survenue de lésions PIN (*prostatic intraepithelial neoplasia*).

Lorsque les animaux subissent le traitement à 90 jours du mélange œstradiol associé à la testostérone, les auteurs observent des PIN (tous grades) dans la prostate dorsale chez 4 animaux sur 10 témoins (40% ; non exposés ni à l'œstradiol ni au BPA), chez 10 animaux sur 10 (100%) exposés au BPA [p exact de Fisher : 0,0108] et chez 5 animaux sur 10 exposés à

l'œstradiol (50%) [p exact de Fisher > 0,99]. Si on cherche à établir la distinction en fonction du grade de la lésion PIN, la différence est à la limite de la significativité pour les lésions à haut grade [p exact de Fisher : 0,0698] et clairement non significative pour celles à bas grade [p exact de Fisher > 0,99].

Il est à noter que la dose d'œstradiol administrée en néonatal (0,1 µg/kg pc) a été choisie pour être similaire (0,15 µg/kg pc) à celle censée induire une augmentation du poids relatif de la prostate dorsale chez le rat à 90 jours (Putz *et al.*, 2001).

Dans une deuxième étude, Prins *et al.* utilise un protocole similaire à celui utilisé dans l'étude initiale de Ho *et al.*, appartenant à la même équipe que Prins, avec 15 à 25 animaux par groupe, mais avec quelques variations (Prins *et al.*, 2011 ; Ho *et al.*, 2006) :

- La lignée des rats SD est différente (provient d'un nouveau fournisseur, celui ayant fourni les animaux de la première étude ayant cessé son activité)
- A 90 jours, la concentration circulante finale en œstradiol était, en moyenne, de 164 pg/mL, au lieu de 75 dans la première étude, et celle en testostérone en moyenne de 1,72 ng/mL au lieu de 3 ng/mL dans la première étude. Le BPA a été administré à la même dose (10 µg/kg) par voie sous-cutanée mais aussi par voie orale. Cette étude a été réalisée pour faire face aux critiques du NTP concernant la validité de la voie sous-cutanée comme mode d'administration pertinente chez l'homme, ce dernier étant principalement exposé par voie orale.
- Les lésions PIN sont gradées en trois scores (I à III) au lieu de deux (bas grade vs haut grade)

L'administration de BPA en post-natal, sans traitement à 90 jours par le mélange œstradiol associé à la testostérone, n'induit aucune modification au niveau de la prostate (28 semaines), qu'il s'agisse du poids de la prostate ou la survenue de lésions PIN.

Lorsque les animaux subissent le traitement à 90 jours du mélange œstradiol associé à la testostérone, les auteurs observent le développement de PIN (tous grades) dans la prostate chez 18, 64 et 33% des témoins selon il s'agisse de la prostate ventrale, latérale ou dorsale respectivement. L'exposition au BPA par voie sous-cutanée induit des lésions PIN (sans distinctions de grade) chez 40% (ventrale), 100% (latérale) et 47% (dorsale) des animaux. Lorsque l'administration est faite par voie orale, ces pourcentages sont de 40, 90 et 66% respectivement. Sans que le nombre d'animaux concernés soit indiqué dans la publication, les auteurs rapportent, quelle que soit la voie d'administration, une différence significative (p exact de Fisher > 0,01 et < 0,02) dans la prévalence des lésions PIN entre le groupe exposé au BPA et le groupe témoin, dans la prostate latérale.

Les auteurs concluent au terme de leurs études, que l'exposition au BPA à des doses compatibles aux expositions humaines, et en particulier chez le jeune enfant, est susceptible de générer des lésions prostatiques précurseur d'un adénocarcinome. Par ailleurs, ils justifient la différence concernant la zone prostatique concernée (dorsale dans la première étude, latérale dans la deuxième) par la différence de lignées de rats SD sans apporter d'arguments.

- **Extrapolation à l'Homme : éléments d'interprétation**

L'effet du BPA a été étudié par l'équipe de Prins dans un contexte d'exposition post-natale. Cette période d'exposition a été choisie en argumentant que chez les rongeurs, contrairement à l'homme, les étapes critiques de la différenciation et du développement de la prostate ont lieu après la naissance.

Chez le rongeur, les effets du BPA ne se produisent pas suite à une simple exposition post-natale. Pour que les effets soient observables à l'âge adulte, il apparaît nécessaire de conditionner les rongeurs par une exposition préalable aux œstrogènes. Cet artifice (œstrogénisation néonatale des rongeurs favorisant l'apparition de dysplasies prostatiques) a du sens dans un cadre expérimental mécanistique, mais cesse de l'avoir dans le cadre d'un modèle censé être employé pour une évaluation des risques chez l'homme.

Les auteurs présentent les lésions PIN comme des précurseurs d'un adénocarcinome, ce qui n'est pas, à l'heure actuelle, démontrée ni chez l'animal ni chez l'homme. La recherche de lésions histologiques prédictives de la survenue d'une tumeur prostatique constitue un domaine d'intérêt évident et les premières lésions ont été décrites en 1926. C'est en 1987 que le terme de PIN a été introduit chez l'homme, les PIN étant considérées comme des lésions pré-néoplasiques prostatiques. Trois grades ont été initialement décrits (I, II et III), puis renommés ultérieurement en lésions de « bas grade » (type I) et de « haut grade » (type II et III). Ces PIN se caractérisent par le maintien de l'architecture glandulaire avec des ruptures de la couche de cellules basales à divers degrés d'intensité (à la base de la distinction bas et haut grade). Cependant, aucune invasion du stroma n'est constatée. L'immuno-marquage de la cytokératine de la couche basale permet de différencier les PIN (présence de marquage) des adénocarcinomes (absence de marquage). Les PIN présentent néanmoins des anomalies morphologiques du noyau et des nucléoles, une néo-vascularisation et une instabilité génétique avec des variations du contenu en ADN (aneuploïdie). Notons que les PIN ne contribuent pas à l'augmentation du PSA (Antigène Prostatique Spécifique) contrairement aux adénocarcinomes.

Même s'il existe des éléments et anomalies structuraux ou moléculaires communs avec les adénocarcinomes, leur devenir à long terme, ainsi que la nature de la relation avec un adénocarcinome, en particulier en tant que précurseur, reste encore imprécis, voire controversé. Des autopsies ont montré que les lésions PIN sont fréquentes, que leur fréquence augmente avec l'âge et qu'elles surviennent précocement dans le temps par rapport à la survenue des adénocarcinomes. Toutefois, il y a autant de porteurs de lésions PIN qui ne développent pas d'adénocarcinomes que d'adénocarcinomes qui n'ont pas été précédés de lésions PIN. Suite à des études récentes comme celle menée dans 5 pays européens (*European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer*) sur des séries de biopsies chez 56553 porteurs de dysplasies prostatiques, l'attitude clinique face à des lésions PIN (indépendamment d'autres facteurs de risque) est actuellement conservatrice (Laurila *et al.*, 2010). Les patients porteurs de PIN sont

surveillés, mais pas plus que les porteurs d'autres facteurs de risque objectivement reconnus (antécédents familiaux de cancer de la prostate, origines africaines subsahariennes,...) sans autre interventionnisme (i.e. biopsies régulières).

Concernant la transposition de la lésion PIN du rongeur à l'homme, quand bien même les deux espèces partagent des similitudes morphologiques et moléculaires évidentes, des études supplémentaires sont nécessaires pour affirmer que les dysplasies des rongeurs sont similaires aux PIN humains, d'autant que leur relation avec les adénocarcinomes est incertaine.

La classification en trois grades I, II et III puis en bas et haut grade employée par l'équipe de Prins n'est pas forcément identique à celle qui est utilisée chez l'homme, elle-même assez difficile à établir entre anatomopathologistes.

6.9.3 Cancer de la prostate

Le rongeur (contrairement au chien ou singe) constitue un modèle peu adapté à l'étude du cancer de la prostate du fait de la rareté de sa survenue spontanée. Il existe néanmoins plusieurs moyens de créer artificiellement des lésions dysplasiques des cellules épithéliales prostatiques ou des adénocarcinomes chez certaines lignées de souris ou de rats, par exemple : administration d'un carcinogène connu (methylnitrosourea) suivie de hautes doses de testostérone chez le rat Lobund Wistar ; association de testostérone et d'œstrogènes permettant d'obtenir des lésions dysplasiques chez le rat Noble ; souris transgéniques (C3(1)/TAG générant des lésions dysplasiques puis des carcinomes prostatiques qui semblent émerger des lésions PIN. Dans ces conditions expérimentales, les rongeurs permettent d'étudier et d'identifier des processus moléculaires tumoraux fondamentaux - autrement dit des mécanismes – susceptibles d'être communs à d'autres espèces dont l'Homme. Mais, n'étant pas des modèles spontanés, il est légitime de s'interroger au jour d'aujourd'hui sur leur pertinence dans le cadre d'une évaluation de risque.

6.9.4 Adénocarcinome : Extrapolation à l'Homme - éléments d'interprétation

Le cancer de la prostate est la pathologie tumorale la plus fréquente chez l'homme dans la plupart des pays occidentaux. Son incidence s'est accrue d'une manière importante au cours des dernières décennies expliquée, sinon en totalité du moins en grande partie, par l'utilisation croissante du dosage du PSA dans le sang comme outil de diagnostic précoce. L'augmentation de l'incidence du cancer de la prostate est fréquemment employée comme argument pour soutenir les effets potentiellement néfastes des PE (vom Saal *et al.*, 2007) alors qu'aucune étude n'a pu estimer de manière réaliste la part contributive de l'environnement chimique et encore moins celles des PE. L'influence du diagnostic précoce individuel de la maladie rend extrêmement difficile la mise en évidence d'une éventuelle participation d'autres facteurs (comportements alimentaires, xénobiotiques,...) dans l'augmentation séculaire de son incidence.

Sur la base de données d'autopsies, la présence de lésions tumorales de la prostate (adénocarcinomes) augmente avec l'âge (la fréquence est, d'un ordre de grandeur équivalente à

l'âge exprimé en décennies). Cependant, l'expression clinique de la maladie ne se manifeste que chez un nombre restreint d'individus et à partir de la 6^{ème} décennie avec une augmentation croissante au cours des décennies suivantes. Notons que l'une des critiques de l'usage extensif du dosage du PSA est de détecter des tumeurs indolentes et d'induire des traitements efficaces en terme de réduction de la mortalité mais entraînant une importante morbidité (impuissance, incontinence urinaire) affectant la qualité de vie. L'âge, les antécédents familiaux au premier degré de cancer de la prostate et les origines ethniques de la population, constituent les seuls facteurs de risque bien identifiés de survenue de la maladie (expression clinique). Ils traduisent la présence des facteurs génétiques de susceptibilité en interaction avec des facteurs hormonaux endogènes.

Tableau XIII : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur la prostate

Référence	Espèces / souches	Voies	Dose Période d'exposition	Effets NOAEL/LOAEL
(Nagel <i>et al.</i> , 1997)	Souris CF1	Orale	2 et 20 µg/kg pc/j Exposition prénatale de GD11 - 17	Pesée de la prostate réalisée chez les souris à l'âge adulte : ↗ du poids de la prostate de : - 30% à la dose de 2µg/kg pc/j - 35% à la dose de 20µg/kg pc/j
(Timms <i>et al.</i> , 2005)	Souris CF1	Orale	10 µg/ kg pc/j Exposition prénatale de GD14 – 18	Observation à la naissance d'une prolifération de l'épithélium des canaux primitifs de la glande prostatique
(Ho <i>et al.</i> , 2006)	Rat Sprague-Dawley	Sous-cutanée	10 µg/kg pc/J PND1, PND3 et PND5	Altération définitive de l'expression d'une trentaine de gènes par mécanismes impliquant méthylation de l'ADN BPA maintient définitivement l'expression de phosphodiesterases 4D en bloquant la méthylation du promoteur de ce gène Apparition de néoplasie prostatique intraépithéliale chez les exposés au BPA
(Tyl <i>et al.</i> , 2008)	Souris	Orale	0,003 - 0,03 - 0,3 - 5 - 50 et 600 mg/kg pc/j Exposition 10 semaines avant l'accouplement jusqu'à l'âge adulte	Pas de différence significative du poids de la prostate
(Tyl <i>et al.</i> , 2002)	Rat	Orale	0,001 - 0,02 - 0,3 - 5 - 50 et 500 mg/kg pc/j Exposition 10 semaines avant l'accouplement jusqu'à l'âge adulte	<u>Conclusion</u> : BPA dans la large gamme de doses étudiées, et plus particulièrement aux doses compatibles avec l'exposition humaine, pas d'effet sur la reproduction. Présence d'effets aux plus fortes doses (non pertinentes pour l'exposition humaine).
(Prins <i>et al.</i> , 2011)	Rat Sprague-Dawley	Sous-cutanée et orale	10 µg/kg pc/j pour les 2 voies	- Administration du BPA seul en post natal n'induit pas de modification sur la prostate - Administration du BPA + estradiol + testostérone à PND90 induit : - une augmentation du poids de la prostate ventrale, dorsale et latérale - lésions PIN pour les 2 voies, avec des % différents

6.9.5 Conclusion

Chez l'homme, aucune étude épidémiologique destinée à mettre en évidence une éventuelle association entre l'exposition au BPA et une pathologie prostatique n'a été publiée à ce jour.

Chez l'animal, les études de Tyl *et al.*, conduites sur plusieurs générations chez la souris et le rat, ne montrent pas d'effet sur le poids de la prostate (Tyl *et al.*, 2002; Tyl *et al.*, 2008). En revanche, d'autres études telles que Chitra *et al.* et Herath *et al.* montrent une augmentation du poids relatif de la prostate ventrale chez le rat après une exposition uniquement à l'âge adulte (Chitra *et al.*, 2003; Herath *et al.*, 2004) ou une augmentation du poids de la prostate après une exposition prénatale chez la souris (Nagel *et al.*, 1997). Les effets sur le poids de la prostate sont controversés. Lorsqu'un examen histologique était réalisé, cette augmentation de poids a été associée à une hyperplasie. L'exposition néonatale au BPA (rongeurs), dans des conditions induites, a mis en évidence l'apparition de lésions de type PIN, mais pas l'apparition d'adénocarcinome de la prostate. Les effets observés dans ces conditions expérimentales sont suspectés. Au regard de tous ces résultats, les experts considèrent que **les effets sur la prostate chez l'animal sont controversés.**

6.10 Effets sur le sein

Selon le rapport du NTP-CERHR, des études chez le rongeur montrent un effet du BPA lors d'expositions pendant la gestation par perfusion sous-cutanée à des doses allant de 0,0025 mg/kg pc/j à 1 mg/kg pc/j et sont en faveur d'une augmentation de la susceptibilité à développer des tumeurs mammaires (Durando et al, 2007 ; Murray et al, 2007) (NTP-CERHR, 2008). Même si ces lésions ont été qualifiées de prénéoplasiques, aucune preuve de leur évolution en carcinomes invasifs n'a été rapportée. Par conséquent, il ne peut être conclu que le BPA présente un risque de cancer du sein. De même, aucun effet n'a été rapporté chez les rongeurs après une exposition à l'âge adulte.

Le rapport de l'UE RAR cite trois études se rapportant à la recherche de lésions prénéoplasiques. La première, celle de Durando *et al.* (2007), a utilisé des rats Wistar, exposés *in utero* entre GD8 et GD23, par voie sous-cutanée, à 25 µg/kg pc/j (CE, 2010b). L'étude montre que le BPA perturbe l'architecture histologique de la glande mammaire et augmente sa susceptibilité à un carcinogène (N-nitroso-N-méthyl urée) administré 50 jours après la fin du traitement au BPA. Dans la deuxième étude de Murray *et al.* (2007), il s'agit d'une exposition fœtale au BPA (0,025 et 1 mg/kg pc/j) qui induit le développement de lésions mammaires prénéoplasiques et néoplasiques. La dernière étude citée, celle de Colerangle et Roy (1997), évalue la croissance de la glande mammaire chez des rats Noble traités en sous-cutanée avec 0,1 et 54 mg/kg pc de BPA. Les auteurs ont noté une augmentation significative de la conversion des structures immatures en structures matures, une diminution du nombre moyen de canalicules terminaux et de bourgeons terminaux et une augmentation du nombre moyen de lobules. Cependant, les conclusions du rapport de l'UE RAR (2008) critiquent ces 3 études en raison de leurs limites méthodologiques.

En 2010, le panel d'experts FAO/OMS a considéré que les études classiques de cancérogenèse du BPA chez les rongeurs à des doses de l'ordre de 75 à 150 mg/kg pc/j ne montraient pas d'effets ou des effets très faibles. Cependant, le panel s'interroge si, en raison de l'absence d'exposition des animaux pendant la période prénatale, le potentiel cancérogène du BPA a été correctement investigué dans ces études. En effet, certaines études montrent qu'une exposition périnatale au BPA (à des doses orales allant de 10 à 250 µg/kg pc pc/j) pouvait entraîner des proliférations de l'épithélium des canaux mammaires des F1. Une exposition au BPA pendant des fenêtres particulières de susceptibilité pourrait avoir un effet sur le développement de la glande mammaire et les rendre plus susceptibles à l'apparition de lésions néoplasiques ou prénéoplasiques consécutives à une exposition à des agents initiateurs ou promoteurs de tumeurs puissants. Ces études souffrent cependant de faiblesses dans leur protocole qui en limitent l'interprétation. Ce panel d'expert indique par ailleurs qu'une étude de cancérogenèse chez le rongeur est en cours au NTP. Les expositions par voie orale débuteraient dès la période de vie fœtale. Un suivi des doses internes de BPA libre et conjugué est prévu (FAO/OMS, 2010).

Selon le rapport de l'Inserm, de nombreux travaux indiquent de manière cohérente qu'une exposition fœtale ou périnatale au BPA modifie l'architecture de la glande mammaire à l'âge adulte chez les rongeurs (Inserm, 2011). Le rapport cite les travaux de Vanderberg *et al.* (2008) qui notent une augmentation de la densité, de la ramification et du nombre de canaux et d'alvéoles, et une hyperplasie des canaux terminaux chez la souris. Il cite aussi ceux de Markey *et al.* (2001; *in utero*, souris), de Munoz-de-Toro *et al.* (2005, *in utero* et néonatal, souris), de Murray *et al.* (2007, fœtal, rat), de Moral *et al.* (2008, *in utero*, rat) où sont rapportés une accélération de la maturation du coussin adipeux, un retard dans la formation de la lumière ainsi qu'une densification des structures terminales des canaux.

L'Inserm rapporte des travaux dans lesquels une exposition au BPA et le risque de survenue de tumeurs mammaires est démontré ou non (Inserm, 2011). Chez l'animal, l'étude de Murray *et al.*, (2007) suggère un risque accru de tumeurs mammaires chez les rats. L'Inserm rapporte aussi des travaux montrant une susceptibilité à la cancérisation des cellules mammaires de rats exposés *in utero* à des faibles doses de BPA, notamment les travaux de Munoz-de-Toro *et al.* (2005), Durando *et al.* (2007), Wadia *et al.* (2007) et de Jenkins *et al.* (2009). L'Inserm (2011) rapporte une étude épidémiologique publiée, Yang *et al.* (2009), ne montrant pas de différence nette dans les taux de BPA sanguins entre les cas (femmes chez lesquelles un cancer du sein a été diagnostiqué) et les témoins. L'Inserm conclut finalement que, bien que les données chez les rongeurs apparaissent convaincantes, il n'y a, à ce jour, aucune étude qui démontre un effet du BPA au cours du développement chez l'être humain.

6.10.1 Données humaines

Une seule étude épidémiologique a évalué la relation entre l'exposition au BPA et le risque de cancer du sein (Yang *et al.*, 2009). Dans cette étude transversale, 152 femmes coréennes (70 cas ayant eu un cancer du sein diagnostiqué entre 1994 et 1997 et 82 témoins recrutés dans le même hôpital et appariés sur l'âge) ont rempli un questionnaire et ont eu un dosage sanguin de BPA (le biomarqueur d'exposition retenu était la forme conjuguée). Les niveaux de BPA n'étaient pas différents entre les cas et les témoins ($p=0,42$).

Les importantes limites méthodologiques de cette étude, comme le manque de puissance statistique (effectif réduite), le BPA indétectable chez la moitié des sujets sans précision sur une éventuelle différence entre les cas et les témoins, un questionnaire non standardisé et non adapté à la question posée (dosage du BPA, substance non persistante, après le diagnostic de cancer du sein) empêchent de tirer des conclusions sur l'association entre le BPA et le cancer du sein.

6.10.2 Données animales

Dans la plupart des études de toxicologie de la reproduction réalisées avec des femelles exposées *in utero* au BPA, on note que, soit les auteurs n'ont pas analysé les glandes mammaires, soit les examens histologiques n'étaient pas appropriés pour mettre en évidence des effets cancérigènes. De même, les études analysant la reprotoxicité n'ont pas suivi les animaux suffisamment longtemps après une exposition prénatale pour détecter des effets cancérigènes à l'âge adulte.

A part les études de Moral *et al.*, Jenkins *et al.* et Betancourt *et al.* réalisées par voie orale, toutes les autres études ont été réalisées à l'aide de pompes sous-cutanée avec des doses allant de 0,000025 à 10 mg/kg pc/j (Betancourt *et al.*, 2010b; Betancourt *et al.*, 2010a; Jenkins *et al.*, 2009; Moral *et al.*, 2008). On dénombre 12 études chez les rongeurs (7 chez la souris et 5 chez le rat) traitant de ce type d'effets. Neuf études ont porté sur des expositions prénatales, 3 ont porté sur des études post-natales dont quelques études issues de 2 laboratoires.

6.10.3 Expositions prénatale et périnatale

Plusieurs études *in utero* ont mis en évidence des effets néoplasiques et non néoplasiques sur la glande mammaire. Ceci est particulièrement vrai pour les expositions *in utero* comme l'indiquent ici plusieurs études chez le rongeur.

Munoz-de-Toro *et al.* ont regardé dans quelle mesure l'exposition périnatale au BPA, entre GD9 et PND4 chez la souris CD-1, pouvait induire une modification du développement des glandes mammaires chez les F1 (Munoz del Toro *et al.*, 2005). En utilisant une pompe osmotique Alzet, les auteurs ont soumis les mères à des concentrations de 25 et 250 µg de BPA/kg pc/j (BPA dilué dans le DMSO à 50%). Les glandes mammaires ont été prélevées puis analysées à 30 jours. Les analyses montrent que l'exposition périnatale au BPA augmente significativement la réponse aux œstrogènes en augmentant le nombre et la taille des bourgeons mammaires et augmente également l'expression des récepteurs à la progestérone. Les auteurs suggèrent que cette augmentation puisse être un précurseur de l'augmentation de branchements secondaires dans les canaux mammaires observés à 4 mois ainsi que l'augmentation significative du pourcentage d'alvéoles dans les glandes mammaires à l'âge de 6 mois. Par conséquent, ces corrélations suggèrent que l'exposition périnatale au BPA, en particulier, augmente la susceptibilité de développer un cancer des glandes mammaires.

En 2007, Murray *et al.* ont examiné dans quelle mesure l'exposition prénatale au BPA est suffisante pour induire le développement de lésions préneoplasiques dans la glande mammaire en l'absence de traitement carcinogène additionnel. Ils ont exposé des rates Wistar-Furth gestantes à des doses de 2,5, 25, 250, 1000 µg/kg pc/j entre GD9 et PND1 à l'aide d'une pompe osmotique

Alzet (Murray *et al.*, 2007). Les observations anatomiques et histologiques ont été réalisées sur des femelles à la puberté (PND50) et à PND95. Les résultats suggèrent que l'exposition prénatale au BPA augmente significativement le nombre de canaux hyperplasiques dans la glande mammaire pour toutes les doses à la puberté (PND50), alors qu'à PND95, l'incidence des canaux hyperplasiques n'est significativement supérieure à celle des témoins qu'à la dose la plus faible de 2,5 µg/kg pc/j. À PND50, les auteurs ont observé 1 cas sur 4 de CIS aux deux doses de BPA de 250 et de 1000 µg/kg pc/j (1/4 à 250 µg/kg pc/j et 1/4 pour 1000 µg/kg pc/j) et rapportent que cette incidence a « augmenté » à PND95 avec une incidence de 2 cas sur 6 (différence non significative). Les structures observées étaient de type « cribriformes » considérées comme des carcinomes intracanaux (CIS), selon les critères décrits antérieurement par deux auteurs (Russo et Russo, 1996; Singh *et al.*, 2000). Chez les rongeurs comme chez l'Homme, les hyperplasies intracanaux sont considérées comme précurseurs des CIS (Singh *et al.*, 2000). Plusieurs limites méthodologiques sont à noter : le faible effectif d'animaux utilisé ainsi que l'absence d'information concernant l'incidence des CIS chez les témoins. Aucune investigation n'a été effectuée après PND95. Il est à noter que la souche de rat utilisée est très sensible aux cancérogènes chimiques.

Vandenberg *et al.* ont publié deux articles en 2007 et 2008 relatifs à la glande mammaire et au BPA (Vandenberg *et al.*, 2007b; Vandenberg *et al.*, 2008). Dans la première étude de 2007, une seule concentration de 250 ng de BPA/kg pc/j perfusé en continu à partir d'une pompe sous-cutanée a été utilisée entre les jours GD8 et GD18 chez la souris CD-1 âgées de 8 semaines. Chez le fœtus à GD18, le BPA modifie l'organisation générale de la glande mammaire pour tous les critères morphologiques étudiés. Pour valider ces observations, les mêmes auteurs ont réalisé une seconde étude en 2008, dans laquelle des souris ont été exposées au BPA (0, 0,25, 2,5 et 25 µg BPA/kg pc/j) de GD8 à PND16. Les auteurs ont étudié les caractéristiques des glandes mammaires des nouveau-nées à 3, 9 et entre 12 et 15 mois après la naissance. Les résultats confirment les observations précédentes selon lesquelles l'exposition au BPA altère la morphologie des glandes mammaires chez les souris adultes. Les effets observés sont des hyperplasies, avec l'apparition de canaux « perlés » à toutes les doses de BPA à 9 mois, mais pas à 12-15 mois. Dans la conclusion, la question de la réversibilité de ces effets a été soulevée par les auteurs.

Doherty *et al.* proposent un nouveau mécanisme pour expliquer les effets des perturbateurs endocriniens sur le développement mammaire (Doherty *et al.*, 2010). Ces auteurs ont exposé des souris CD-1 gestantes à 10 µg de BPA/kg pc/j entre le GD6 et GD21. Une exposition *in utero* au BPA entraîne une augmentation de l'expression de l'EZH2, ce qui suggère que le BPA pourrait être impliqué dans le développement de lésions mammaires chez l'adulte. L'expression de l'histone « Enhancer of Zeste Homolog 2' » (EZH2), biomarqueur de risque qui serait impliqué dans le développement de cancer mammaire, a été évaluée 6 semaines après la naissance. À

noter, que cette protéine est impliquée dans le renouvellement des cellules souches et serait activée par le gène BRCA1 mutant (Kunju *et al.*, 2011). Durando *et al.* ont mené une étude prénatale chez des rates Wistar exposées par perfusion sous-cutanée à 25 µg de BPA/kg pc/j entre GD8 et GD23 (Durando *et al.*, 2007). Les faibles doses de BPA entraînent une hyperplasie canalaire, une desmoplasie et la présence de mastocytes dans le stroma, ce qui suggère un risque accru de développement cancéreux, même 50 jours après la fin de l'exposition au BPA. Ceci est en parfaite concordance avec d'autres résultats publiés et cités ci-dessus.

Moral *et al.* ont exposé par gavage des rates Sprague-Dawley à 25 ou 250 µg de BPA/kg pc/j de GD10 à GD21 (Moral *et al.*, 2008). Les nouveau-nés femelles ont été sacrifiés et les glandes mammaires prélevées à PND21, 35, 50 et 100 afin d'observer les changements morphologiques, d'évaluer l'expression de gènes et l'indice de prolifération cellulaire. Une augmentation du nombre de structures épithéliales indifférenciées et des modifications d'expressions des gènes ont été observés. Les résultats suggèrent que les effets sur la glande mammaire dépendent à la fois de la dose et de la période d'exposition et que le BPA affecte la sensibilité de la glande mammaire à subir des modifications vers des structures non différenciées.

Betancourt *et al.* ont étudié la susceptibilité de développer une tumeur de la glande mammaire suite à une exposition *in utero* au BPA suivie d'une exposition post-natale à un agent cancérigène (diméthylbenzentracène = DMBA) (Betancourt *et al.*, 2010a). Les auteurs mentionnent que les changements au niveau des glandes mammaires ne sont pas accompagnés de signes cliniques tels que l'ouverture précoce du vagin ou une variation des estrogènes et de la progestérone, ce qui indiquerait, selon les auteurs, que les modifications sont des altérations épigénétiques agissant directement sur l'organe cible. La plus forte dose de BPA (250 µg/kg pc/j) augmente l'incidence de tumeurs mammaires et modifie la fenêtre de susceptibilité de la glande mammaire au DMBA, qui passe de PND50 à PND100. De plus, les auteurs ont réalisé une analyse protéomique chez des rates traitées par gavage, avec des doses de 25 ou 250 µg/kg pc/j de BPA pendant la gestation (GD10-GD21) (Betancourt *et al.*, 2010b). La modification de l'expression de certaines protéines régulatrices de la prolifération cellulaire observée à PND21 (sevrage) et PND50 (puberté) pourrait augmenter la sensibilité de la glande mammaire à développer une tumeur.

Une étude de Wadia *et al.* a cherché à montrer si une exposition périnatale au BPA entre GD8 et PND2 pouvait induire une sensibilité des glandes mammaires à l'œstradiol à l'âge adulte chez des souris CD-1 et C57B16 (Wadia *et al.*, 2007). Les auteurs voulaient comparer la sensibilité de ces 2 souches de souris entre elles. Des souris gestantes ont été exposées à 250 ng de BPA/kg pc/j de GD8 à PND2. A PND25, les nouveau-nés ont été ovariectomisés, implantés avec une pompe à œstradiol, exposés pendant 10 jours à des concentrations 0,5 ou 1,0 µg de E₂/kg pc/j et sacrifiés à PND35. Les 2 souches montrent une réponse similaire. Cependant, l'exposition périnatale au BPA

altère plusieurs paramètres dans les 2 souches, et ces effets étaient un peu plus prononcés chez la souche CD-1. Les résultats suggèrent que l'exposition périnatale au BPA altère la réponse de l'œstradiol à la puberté, et ce, pour les deux souches, même si les effets chez la souris CD-1 sont plus prononcés.

6.10.4 Exposition post natale et/ou pubertaire

Seules quelques études récentes s'intéressent à une exposition post-natale. L'étude de Jenkins *et al.* montre que des rates dont les mères ont été traitées par du BPA à 25 et 250 µg/kg pc/j pendant la lactation (PND2 à PND20), développent plus de tumeurs mammaires et présentent une réduction du temps de latence d'apparition de ces cancers après traitement par gavage à PND50 par un carcinogène, le diméthylbenzentracène (DMBA) (Jenkins *et al.*, 2009). Le type de tumeurs n'est pas spécifié dans l'article. La plus forte dose de BPA entraîne une augmentation de la prolifération cellulaire et une diminution de l'apoptose dans les glandes mammaires à PND50 (mais non à PND21) associées à une surexpression des protéines régulatrices de la prolifération cellulaire. Le délai d'apparition des tumeurs est significativement plus court dans le groupe exposé à la plus forte dose. Les auteurs concluent que le BPA joue un rôle amplificateur sur la survenue de tumeurs mammaires après exposition au DMBA chez la progéniture femelle. Ceci suggère que l'effet du BPA pourrait agir par des mécanismes épigénétiques. Ce mode d'action a été récemment démontré par (Yang *et al.* 2009).

Jones *et al.* ont évalué l'impact de la perte de la fonction du gène BRCA1 sur la prolifération cellulaire induite par le BPA (Jones *et al.*, 2010). Cette étude est critiquable et l'interprétation des résultats difficiles. Il s'agit d'une étude mécanistique, non utilisable directement pour l'évaluation du risque. Une autre étude, celle de Colerangle et Roy, évalue la croissance de la glande mammaire chez des rates Noble traitées par voie sous-cutanée avec du BPA à des doses de 0,1 et 54 mg/kg pc/j (Colerangle et Roy, 1997). Ils ont noté une augmentation significative de la conversion des structures immatures en structures matures, une diminution du nombre des bourgeons canaux et une augmentation du nombre moyen de lobules. Les auteurs ont aussi noté une altération du cycle cellulaire qui serait un facteur important dans le développement d'une instabilité génétique comme des erreurs de nucléotide lors de la synthèse de l'ADN.

6.10.5 Exposition à l'âge adulte

Comme rapporté dans le rapport d'étude du NTP, une étude de cancérogenèse par voie orale chez des rates (BPA : 74 et 135 mg/kg pc/j) et des souris (BPA : 650 à 1300 mg/kg pc/j) n'a pas mis en évidence d'effet néoplasique et non néoplasique sur la glande mammaire (cf. chapitre 6.10) (NTP, 1982).

6.10.6 Transposition à l'Homme : éléments d'interprétation

Les lésions précancéreuses du sein correspondent à des proliférations épithéliales atypiques qui se développent à l'intérieur de l'arbre galactophorique et sont de deux types : canalaire et lobulaire. Ces deux types se différencient non pas par leur localisation mais par leur type cellulaire constitutif. Le diagnostic histologique des lésions pré-cancéreuses est difficile et la reproductibilité inter-pathologistes est médiocre, comme l'attestent un certain nombre d'études. La classification des lésions pré-cancéreuses chez l'Homme repose sur les termes de néoplasie intraépithéliale canalaire : DIN ou lobulaire : LIN. Le carcinome canalaire *in situ* (CCIS) est une lésion cancéreuse préinvasive. Aux États-Unis, les CCIS représentent près de 20% des cancers dépistés (1 cas de CCIS pour 1 300 mammographies de dépistage) (Ernster *et al.*, 2002).

Lorsqu'elle est laissée en place, une lésion prénéoplasique ou précancéreuse peut se transformer en carcinome pré-invasif ou carcinome *in situ* qui lui-même peut se transformer en carcinome invasif. L'hypothèse de l'existence d'un continuum entre la glande mammaire normale et le cancer invasif du sein, même si elle peut paraître trop simpliste, est basée sur des arguments directs et indirects (Antoine *et al.*, 2010). Des études épidémiologiques récentes ont montré que les femmes ayant des antécédents de lésions bénignes du sein avaient un risque augmenté de cancer du sein.

De même, l'évolution naturelle des carcinomes canaux *in situ* (CCIS) de bas grade a pu être déterminée par des études de suivi à long terme chez des femmes ayant eu une biopsie diagnostique sans autre thérapeutique. Après 10 ans de suivi, 14 à 60% de ces femmes ont eu un diagnostic de cancer invasif dans le même sein (Page *et al.*, 1995). L'évolution naturelle des CCIS de haut grade ou des CCIS palpables cliniquement n'est, en revanche, pas bien caractérisée car dans la plupart des cas, la tumeur est enlevée en totalité par chirurgie ce qui est également le cas des lésions d'hyperplasie canalaire atypique (HCA).

L'augmentation importante de la pratique de biopsies sur des images infra-cliniques et les données récentes apportées par l'étude moléculaire des lésions ont apporté un nouvel éclairage sur le risque de transformation de lésions hyperplasiques en cancer.

Lors de la transformation de lésions hyperplasiques en cancers *in situ* puis en cancer invasif, des déséquilibres sont observés à l'échelon chromosomique avec une perte d'hétérozygotie dans 40% des cas d'hyperplasie et plus de 70% des carcinomes *in situ* de haut grade (Aubele *et al.*, 2000). Des marqueurs moléculaires de la transformation tumorale mammaire tels que le récepteur des estrogènes, exprimé par les cellules mammaires épithéliales normales, est exprimé par plus de 70% des carcinomes canaux *in situ* (CCIS) et le protooncogène HER2/neu est surexprimé dans la moitié des CCIS mais pas dans les hyperplasies atypiques (Allred *et al.*, 1992).

Les rongeurs, rat et souris, ont été largement utilisés pour étudier la cancérogénèse mammaire, que ce soient dans des modèles de tumeurs spontanées ou induites. Le principal avantage du

modèle rat est que le carcinome ressemble plus au cancer du sein de l'Homme, le cancer mammaire chez la souris étant souvent d'origine virale et hormono-indépendant (Cardiff *et al.*, 2000; Gould 1995). Chez la souris CD-1, les lésions spontanées non néoplasiques et néoplasiques de la glande mammaire sont peu fréquentes (moins de 5% : (Gad 2007)).

Les différentes souches de rat utilisées ont montré des sensibilités différentes aux néoplasies induites chimiquement ou par radiations, Sprague-Dawley ou Wistar étant plus sensibles que le rat Fisher. Chez le rat Sprague-Dawley, l'incidence des tumeurs spontanées avoisine 50% dans les études chroniques (exemple, données historiques (NTP, 2010)). Certaines souches, comme la souche Wistar-Furth, présentent une sensibilité accrue à la cancérogénèse mammaire via des carcinogènes chimiques (Gould 1995).

Les facteurs de susceptibilité de la glande mammaire incluent outre les facteurs génétiques, le degré de différenciation du tissu mammaire au moment de l'exposition, le statut physiologique et hormonal, et l'alimentation. La sensibilité est accrue chez la femelle pré-pubère pendant la période du développement mammaire : les canaux se terminent par des bourgeons terminaux (TEB) qui vont progressivement se différencier en bourgeons alvéolaires et en lobules alvéolaires. Le plus grand nombre de tumeurs a été induit chez le rat femelle SD entre 40-46 jours, période la plus active pour la différenciation des TEB, considérés comme la cible des cancérogènes chimiques (Russo et Russo, 1996). Les carcinomes mammaires ont été induits chez les rats par des agents chimiques ou des radiations ionisantes. Les carcinogènes chimiques les plus utilisés comprennent l'hydrocarbure aromatique polycyclique DMBA (diméthylbenzantracène) ou les agents alkylants ENU (N-éthyl-N-nitrosourée) et le NMU (N-méthyl-N-nitrosourée). Après une seule dose de DMBA ou de NMU, un adénocarcinome se développe en 20 jours chez les rats jeunes. Ces cancers envahissent parfois les tissus environnants mais métastasent rarement à des sites distants (Gould 1995). Un protocole de cancérogénèse à court terme par injection de NMU à 21 jours a permis de décrire la chronologie d'induction des lésions pré-néoplasiques et néoplasiques mammaires (Thompson *et al.*, 1998), et de comparer ces lésions à celles observées chez l'Homme (Singh *et al.*, 2000). Ainsi, certaines similitudes ont été décrites concernant les lésions observées chez l'Homme et celles induites chez les rongeurs

➤ Les similitudes incluent :

- Un développement selon un processus multi-étapes
- La majorité des cancers induits par DMBA ou NMU sont hormonodépendants
- Un schéma morphologique similaire : hyperplasies, hyperplasies intra-canaliaires considérées comme préneoplasiques, adénomes/ adénocarcinomes. Les carcinomes canaliaires *in situ* (CCIS) sont considérés comme une progression morphologique vers le carcinome mammaire à partir de lésions prolifératives intracaniaires.

Tableau XIV : Comparaison des lésions histopathologiques pré-neoplasiques et néoplasiques de la glande mammaire, induites chez le rat pré-pubère, avec celles décrites chez l'Homme (Singh *et al.*, 2000)

	Homme	Rat
Lésions bénignes	Fibroadénomes pouvant présenter des carcinomes <i>in situ</i> (CIS) et des hyperplasies canaliaires atypiques (HCA)	Pas d' HCA ni de CIS dans les fibroadénomes
Hyperplasies	Hyperplasies atypiques possibles	Pas d'hyperplasies atypiques
Carcinomes <i>in situ</i>	Carcinomes lobulaires <i>in situ</i> (CLIS) et carcinomes canaliaires <i>in situ</i> (CCIS) peuvent être observés. Plusieurs sous-types histologiques. Microcalcifications possibles.	Moins de diversité histologique. Des CCIS) sont observés, notamment cribriformes et papillaires. Pas de microcalcifications des CCIS.
Carcinomes invasifs	Elastose et calcifications possibles. Plusieurs types. Ganglions impliqués.	Pas d'élastose ou de microcalcifications. Absence de carcinomes lobulaires, etc. Beaucoup moins diversifiés sur le plan histologique. Pas de métastase dans les ganglions

➤ Les différences incluent :

- Morphologie de la plupart des tumeurs mammaires chez la souris ne ressemblent pas aux cancers du sein humains (Cardiff *et al.*, 2000) ;
- Chez le rat, une similitude des lésions histologiques a été décrite, avec moins de diversités que chez l'Homme : par exemple pas d'hyperplasie atypique, ni de microcalcification, ni de forme lobulaire de CIS ou de carcinome invasif lobulaire n'ont été décrites dans le modèle de cancérogénèse à court terme induit par le carcinogène NMU (Singh *et al.*, 2000).
- Les ganglions régionaux ne sont pas envahis chez le rat par comparaison à l'Homme.

Tableau XV : Tableau récapitulatif des études sur les effets du bisphénol A sur le cancer du sein

Référence	Espèces	Voies	Dose Période d'exposition	Effets NOAEL/LOAEL
(Betancourt <i>et al.</i> , 2010a)	Rats Sprague-Dawley	Orale	0 – 25 - 250 µg BPA/kg F0 : Exposition des mères au BPA de GD10 à GD21 suivie d'une administration unique de DMBA à PND50 ou à PND100. F1 : exposition non contrôlée	Effets observés : - L'exposition <i>in utero</i> à 250 µg/kg de BPA associée à une exposition unique de DMBA à 100 jours en post natal (mais pas à PN50) induit une augmentation de l'incidence des tumeurs mammaires et à un temps de latence raccourci comparé au groupe contrôle. - En l'absence de DMBA, une augmentation de la prolifération cellulaire et une surexpression de certaines protéines impliquées dans la prolifération cellulaire est observée. Effet critique : - Amplification de la survenue de tumeur mammaire (nombre/rat et délai d'apparition) dans un modèle DMBA - Expression de protéines impliquées dans la prolifération cellulaire - Modification des protéines modulant la prolifération cellulaire à PND100 (250 µg/kg) - ERα, PR-A, Bcl-2, steroid receptor coactivators, (SRCs), EGFR, IGF-1R, and phospho-c-Raf. Doses chez la progéniture ne sont pas connues, elles sont possiblement inférieure à : NOAEL 25 µg/kg pc/j LOAEL 250 µg/kg pc/j
(Betancourt <i>et al.</i> , 2010b)	Rat	Orale	0 – 25 - 250µg BPA/kg GD10 - GD21. Les descendants femelles sont sacrifiés en PND21 et PND 50.	↗ phospho-AKT, ↗ c-Raf, phospho-ERKs-1 et 2, ↘ TGF-β dans les tissus mammaires à 50 jours de vie Des voies importantes de signalisations sont perturbées par le BPA. L'exposition au BPA prénatale résulte en une altération de l'expression des protéines dans les glandes mammaires en post-natale.
(Doherty <i>et al.</i> , 2010)	Souris CD1	Intra-péritonéale	0 - 10 µg/kg-5 m/kg GD9 à GD26	↗ histones H3 triméthylation ↗ de l'expression du EZH2 (2X) dans les tissus mammaires comparé au contrôle
(Durando <i>et al.</i> , 2007)	Rat femelle Wistar	Pompe sous-	25 µg/kg	↗ prolifération / apoptose ratio ↗ hyperplasie ductal

		cutanée	GD8 à GD23	<p>↗ signe desmoplasia</p> <p>↗ lésion néoplasique</p> <p>Pas NOAEL/LOAEL</p>
(Jenkins <i>et al.</i> , 2009)	Ratons femelles Sprague Dawley	Orale	<p>0 - 25 et 250 µg/kg pc/j, 5 j/sem</p> <p>administré aux mères lactantes de PND 2 à PND 202 (correspondant à 15 administrations/mères). Les ratons femelles sont traités avec une dose unique de DMBA à PND50.</p>	<p>↗ incidence tumeur à forte dose</p> <p>NOAEL 25 µg/kg pc/j</p> <p>LOAEL 250 µg/kg pc/j</p>
(Jones <i>et al.</i> , 2010)	Souris délétées pour BRCA1	Pompe sous-cutanée	250 ng BPA/kg pc/j	<p>Difficile à interpréter (souris transgénique)</p> <p>La délétion de BRCA1 suivi d'une exposition au BPA stimule les glandes mammaires conduisant à l'hyperplasie comparée au contrôle</p>
(Moral <i>et al.</i> , 2008)	Rats Sprague-Dawley	Gavage	<p>25 et 250 µg/kg pc</p> <p>GD10 à GD21</p>	<p>Augmentation du nombre de structures épithéliales indifférenciées (TEB et TD).</p> <p>Pas d'effets sur la prolifération ;</p> <p>L'exposition au BPA change la signature de l'expression des gènes :</p> <ul style="list-style-type: none"> - modification d'expression génique maximale à 100 j avec la dose élevée (gènes up modulés aux deux doses incluent un cluster lié à la réponse immunitaire ; gènes sous exprimés, incluent des gènes reliés à différenciation à dose forte). - A faible dose, profil d'expression le plus modifié à 50 j.
(Munoz del Toro <i>et al.</i> , 2005)	Souris CD1	Pompe sous-cutanée	<p>25 - 250 ng/kg pc dissous dans le DMSO</p> <p>GD9 à PND4</p>	<p>↗ de la réponse aux estrogènes</p> <p>↗ l'expression des récepteurs à la progestérone.</p>
(Murray <i>et al.</i> , 2007)	Rats : Wistar-Furth	Pompe sous-cutanée	<p>2,5 – 25 – 250 – 1000 µg/kg pc</p> <p>GD9 à PND1</p>	<p>↗ le nombre d'hyperplasie intracanalair dans la glande mammaire à toutes les doses (plus marquée à PND50 comparé à PND95).</p> <p>Présence de CIS dans les glandes mammaires d'animaux exposés aux doses les plus élevées à la puberté et à 3 mois.</p>
(Vandenberg <i>et al.</i> , 2007b)	Souris femelle CD1	Pompe sous-cutanée	<p>250 ng BPA/kg pc/j</p> <p>GD8 à GD18</p>	<p>↗ aire ductale</p> <p>↘ taille des cellules</p> <p>Retarde la "lumen" formation</p> <p>Altération du phénotype des glandes</p>

				mammaires
(Vandenberg <i>et al.</i> , 2008)	Souris femelle CD1	Pompe sous-cutanée	0 - 0,25 - 2,5 - 25µg/kg pc/j GD8 à PND16	Altération du développement des glandes mammaires ↗ des indexes de prolifération <i>versus</i> groupe contrôle
(Wadia <i>et al.</i> , 2007)	Souris Outbred CD-1 Souris Inbred C57B16	Pompe sous-cutanée	0 - 250 ng/kg pc/j Exposition mixte BPA et E2 GD8 à PND2	L'exposition périnatale du BPA n'altère pas la réponse utérine à l'E2 administrée de PND25 à PND35 mais altère celle de la glande mammaire.

6.10.7 Conclusion

L'essentiel de la littérature sur l'association entre BPA et cancer du sein a moins de 10 ans et est évolutive, avec de nombreuses références récentes.

Chez l'Homme, les limites méthodologiques de la seule étude épidémiologique identifiée ne permettent pas de tirer de conclusion sur le lien entre exposition au BPA et cancer du sein.

Chez l'animal, bien que les études présentent une certaine hétérogénéité, la convergence de certains effets observés a conduit le groupe de travail à conclure comme suit :

- une accélération de la maturation architecturale de la glande mammaire à l'âge adulte en lien avec une exposition prénatale ou périnatale au BPA est **un effet avéré chez l'animal** ;
- le développement de lésions hyperplasiques intracanalaires en lien avec une exposition périnatale ou prénatale au BPA est **un effet avéré chez l'animal** ;
- le développement de lésions de type néoplasique (CIS : carcinomes intracanalaires) après une exposition périnatale au BPA **est un effet suspecté chez l'animal** ;
- une augmentation de la susceptibilité des glandes mammaires à développer ultérieurement des tumeurs mammaires (lors de co-expositions avec un agent cancérigène) en lien avec une exposition prénatale ou périnatale au BPA **est un effet suspecté chez l'animal**.

➤ **L'effet du BPA sur la glande mammaire est retenu pour l'évaluation des risques.**

7 Apport des études écotoxicologiques

La présente partie a pour objectif d'apporter un éclairage sur les connaissances acquises relatives aux effets du bisphénol A sur un ensemble d'espèces sauvages et de laboratoire. En effet, l'étude des effets écotoxicologiques du bisphénol A complètent les données acquises par les études de toxicologie, soit en confirmant les résultats rapportés par ces études menées chez les mammifères, soit en permettant d'appréhender d'autres types d'effets ou d'autres mécanismes d'action du bisphénol A.

Différentes évaluations du risque environnemental posé par le bisphénol A ont été conduites par l'union européenne en 2003 et 2008 et constituent la base du présent travail. Les études récentes ont été examinées et cette partie expose, soit des données nouvelles, soit des données marquantes issues des précédentes évaluations et qui méritent une attention particulière ou une relecture au vu des connaissances actuelles (CE, 2003; CE, 2010a). Si des études sont disponibles chez différents groupes taxonomiques aquatiques et terrestres incluant les reptiles, les crustacés, les insectes, les vers de terre, les oiseaux mais également les plantes, l'ensemble des groupes taxonomiques ne sont pas systématiquement abordés. Au contraire, l'accent a été porté sur les poissons et les mollusques qui constituent les groupes les plus documentés et/ou pour lesquels les effets sont controversés. Les études concernant les amphibiens et l'action antagoniste du BPA sur le système thyroïdien sont rapportés dans la section 6.6 du présent rapport.

7.1 Données d'exposition

Le calcul des concentrations dans l'eau et les sédiments, sur la base des propriétés physico-chimiques du BPA et des données de production disponibles donne une concentration prévisible dans l'eau (PECeau¹⁹) de 0,032 µg/L et une PECsédiment de 0,52 µg/kg poids sec (CE, 2010a). Les données de monitoring font cependant souvent état de concentrations supérieures. Les données concernant les eaux de surface retenues par le document de l'Union européenne donnent une valeur médiane de 0,01 µg/L, une valeur moyenne de 0,13 µg/L et le 95^e percentile à 0,35 µg/L (CE, 2010a). Une analyse de la bibliographie montre qu'au niveau international, le bisphénol A est régulièrement retrouvé dans les eaux de surface à des concentrations comprises entre la dizaine de ng/L et la dizaine de µg/L (Belfroid *et al.*, 2002; Ineris, 2010a; Kolpin *et al.*, 2002).

¹⁹ PEC = Predicted Environmental Concentration, PNEC = Predicted No Effect Concentration

Il est à noter qu'en France, le bisphénol A n'est pas suivi dans les réseaux de surveillance des milieux aquatiques et de ce fait, peu de données sont disponibles sur les concentrations environnementales de cette molécule.

Dans le compartiment sédimentaire, le bisphénol A est retrouvé à des concentrations comprises entre la dizaine et la centaine de $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids sec (Ineris, 2010a). L'Union européenne indique une valeur médiane, une valeur moyenne et le 95^e percentile, respectivement, de 16, 60 et 256 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (CE, 2010a).

7.2 Bioconcentration

Les propensions à la bioconcentration dans les tissus des organismes exposés sont relativement réduites concernant le BPA. Le facteur de bioconcentration calculé d'après ses propriétés chimiques (log Kow) est de 155 chez les poissons (CE, 2003). La valeur mesurée chez la carpe (*Cyprinus carpio*) est de 67, de 94 chez le saumon (*Salmo salar*, (Honkanen *et al.*, 2004)) tandis qu'il est de 147 chez la grenouille (*Rana temporaria*) et de 144 chez le mollusque *Pisidium amnicum* (Heinonen *et al.*, 2002; Koponen *et al.*, 2007).

7.3 Données de toxicocinétiques

Les seules données disponibles concernent les poissons. Chez le saumon (*Salmo salar*) et la truite (*Salmo trutta*), le taux de pénétration du BPA est de l'ordre de 1 L/kg/h (Bjerregaard *et al.*, 2007; Honkanen *et al.*, 2004). Chez la truite, la demi-vie du BPA est courte, 3,7 heures après injection intra-péritonéale (Lindholst *et al.*, 2001) et moins de 1% de la dose administrée oralement subsiste dans le foie ou les muscles 5 ou 24 heures après la fin de l'exposition (Bjerregaard *et al.*, 2007). Le métabolisme implique une transformation majoritaire en BPA glucuronide et en BPA sulfate de façon plus réduite. Cette biotransformation ne semble effective (puis graduellement efficace) qu'après 7 jours post-fertilisation (Bjerregaard *et al.*, 2008). Les très jeunes stades de développement seraient donc peu ou pas capables de métaboliser le BPA.

7.4 Toxicité aigue

Les valeurs de toxicité aigue varient de 1 à 20 mg/L BPA chez les vertébrés et invertébrés. Plus précisément, chez le poisson, plusieurs études de toxicité aiguë sont disponibles et permettent de statuer sur le caractère écotoxique du bisphénol A. Les concentrations létales 50 mesurées entre 48 et 96 heures sont comprises entre 4,6 et 17,9 mg/L (Tableau XVI).

Tableau XVI : Quelques données de toxicité aiguë du bisphénol A chez le poisson

Espèce	Durée (h)	CL ₅₀ (mg/L)	Remarque	Référence
Vairon à tête de boule (<i>Pimephales promelas</i>)	48	4,6	ASTM en continue	(Alexander <i>et al.</i> , 1998)
	72	4,6		
	96	4,6		
Capucette (<i>Medinia medinia</i>)	48	11	ASTM en continue	
	72	9,4		
	96	9,4		
Medaka (<i>Oryzias. Latipes</i>)	96	13	OCDE 203	(Yokota <i>et al.</i> , 2000)
Poisson porte-épée (<i>Xiphophorus helleri</i>)	96	17,9	Méthode non standardisée	(Kwak <i>et al.</i> , 2001)

7.5 Effets chez les poissons

Une activité œstrogénique est vérifiée par la mesure de l'induction de vitellogénine (vtg), protéine dont la synthèse est dépendante de l'activité de transcription via la liaison au récepteur à l'œstradiol. La mesure du potentiel œstrogénique donne une LOEC de 95 µg/L (Lindholst *et al.*, 2000) et 19 mg/kg pc/jour (Bjerregaard *et al.*, 2007) chez la truite (*Oncorhynchus mykiss*). Ces valeurs sont cependant très variables selon les espèces. Une induction de vtg a été mesurée dès 59 µg/L chez la morue (*Gadus morhua*) (Larsen *et al.*, 2006), tandis qu'aucun effet sur ce paramètre n'a été mesuré chez la brème (*Abramis brama*) jusqu'à 22,8 mg/L (Rankouhi *et al.*, 2004). Cette différence peut s'expliquer par des différences d'affinité espèce spécifique du récepteur des œstrogènes ou par des variations du métabolisme.

Le BPA pourrait également montrer des mécanismes d'action spécifiques. En effet, si certaines études documentent la faible affinité de cette molécule pour le récepteur des œstrogènes comparativement à l'œstradiol, des études récentes basées sur la mise en œuvre d'approches transcriptomiques ont permis de mettre en évidence et de comparer, chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) et chez la carpe (*Cyprinus carpio*), le réseau de gènes hépatiques modifiés après une exposition au BPA et à d'autres œstrogènes (Kausch *et al.*, 2008; Moens *et al.*, 2006; Moens *et al.*, 2007). Les résultats obtenus dans ces études montrent que le BPA régule des gènes spécifiques différents de ceux régulés par les œstrogènes. Ce résultat est particulièrement marquant chez le poisson zèbre chez lequel 47 gènes sont régulés par le BPA contre 211 pour les œstrogènes, les gènes communs codant pour la vitellogénine. Les profils transcriptomiques suggèrent alors que le BPA agirait par un mécanisme différent de celui des autres xéno-œstrogènes. Une analyse

détaillée des profils transcriptionnels générés par le BPA et les œstrogènes est en cours afin de mieux caractériser le mécanisme d'action du BPA chez le poisson.

Des altérations importantes des organes reproducteurs, sur individus adultes et organismes en développement, ont été rapportées par diverses études. Des changements de sex-ratio ont été observés (LOEC) à 355 µg/L chez le médaka (*Oryzias latipes*; (Yokota *et al.*, 2000)) et à partir de 1000 µg/kg chez le poisson zèbre (Drastichova *et al.*, 2005). Des altérations de la gamétogénèse conduisant à des individus intersexués (possédant des organes reproducteurs avec, à la fois, des cellules mâles et femelles) ont été observées dès 32 et 22 µg/L chez le médaka (*Oryzias latipes*) et la carpe (*Cyprinus carpio*), respectivement (Bowmer et Borst, 1999; Metcalfe *et al.*, 2001). Lahnsteiner *et al.* rapportent des diminutions de la qualité et de la mobilité spermatique (de moins de 10% et plus de 50%, respectivement, sans relation dose-effet) pour des concentrations de 1,75 et 2,4 µg/L lors du début de la saison de reproduction de la truite, *Salmo trutta*, (l'effet n'étant plus significatif 2 à 4 semaine plus tard) (Lahnsteiner *et al.*, 2005). Haubruge *et al.* rapportent également une diminution du nombre de spermatozoïdes dans les gonades de guppies (*Poecilia reticulata*) avec une LOEC de 387 µg/L (Haubruge *et al.*, 2000). Enfin, chez le vairon à tête de boule, *Pimephales promelas*, la spermatogénèse est affectée (-40% de spermatozoïdes) dès 16 µg/L (Sohoni *et al.*, 2001) bien qu'une seconde expérimentation n'ait pu confirmer ce résultat à des concentrations aussi faibles dans l'étude de Caunter *et al.* (2006) reportée dans le rapport d'évaluation européen (CE, 2010a). Chez le vairon à tête de boule, une inhibition de la croissance des gonades mâles et femelles est observée après 164 jours d'exposition à 640 µg/L et la production des œufs est inhibée à 1280 µg/L (Sohoni *et al.*, 2001). Chez la carpe (*Cyprinus carpio*), une altération du développement de l'oviducte a été reportée avec une NOEC de 16 µg/L (Bowmer et Gimeno, 2001). Chez la truite fario (*Salmo trutta fario*), une concentration en BPA de 1,75µg/L induit un retard de ponte de deux semaines mais sans effet sur la qualité des œufs (masse des œufs, fécondité ; (Lahnsteiner *et al.*, 2005)) bien que (Thomas et Sweatman, 2008) constatent un retard de maturation des ovocytes vraisemblablement due à une interaction du BPA avec le récepteur membranaire au progestagène de maturation ovocytaire chez le croaker atlantique (*Micropogonius undulatus*). De même, une exposition au BPA génère une diminution du taux de fertilisation des œufs chez le poisson zèbre avec, après 14 jours, une LOEC de 5,7 µg/L (Bayer, 1999). Cette réduction de fertilité pourrait être liée à la capacité du BPA de réduire (dès 23 µg/L) la mobilité des spermatozoïdes comme rapporté chez le croaker Atlantique (*Micropogonius undulatus*) après stimulation par un progestagène (Thomas et Doughty, 2004).

En 2008, Ramakrishnan et Wayne rapportaient une réduction du temps de développement embryonnaire entre 1 et 3 jours post-fertilisation (Ramakrishnan et Wayne, 2008). Une réduction de la masse à l'éclosion et une maturation sexuelle précoce ont également été observées. Des résultats similaires en terme de croissance sont également observés chez des larves de médaka exposées au BPA à dès l'éclosion (Zha et Wang, 2006). Ce résultat suggère un effet possible du BPA sur les gènes qui contrôlent l'horloge du développement via une voie médiée par les récepteurs thyroïdiens. Une action antithyroïdienne (compensée par l'addition de T3) est aussi

rapportée par Gilbert *et al.* lors du développement (50 hpf²⁰) des otolithes²¹ chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) (Gilbert *et al.*, 2011). Une récente étude *in vitro*, menées sur des hépatocytes de dorade transfectés avec un vecteur d'expression du récepteur de l'hormone de croissance (GHR), montre que le bisphénol A affecte l'expression des gènes codant pour le GHR à des concentrations comprises entre 10⁻⁶ et 10⁻⁹ M (0,23-230 µg/L). Kwak *et al.* ont observé une réduction de la longueur de la queue, un caractère sexuel secondaire important, chez le poisson porte-épée (*Xiphophorus helleri*) à des concentrations de BPA de 2 et 20 µg/L (Kwak *et al.*, 2001).

L'exposition de poissons parents à du BPA peut également induire des effets sur la descendance. Les résultats de l'étude multi-génération menée par Sohoni *et al.* vont dans ce sens en montrant une inhibition de l'éclosion des œufs issus de vairons à tête de boule (*Pimephalespromelas*) exposés à 160 µg/L à la génération F2 (Sohoni *et al.*, 2001).

Une exposition à 50 µg/L induit la présence de micronoyaux dans les érythrocytes de turbot (*Scophthalmus maximus*) (Bolognesi *et al.*, 2006). Le bisphénol A peut induire des effets tératogènes chez le poisson comme le montrent Honkanen *et al.* qui rapportent la présence d'oedèmes du sac vitellin et d'hémorragies chez des alevins de saumon (*Salmo salar*) exposés pendant 6 jours à 1 g/L (Honkanen *et al.*, 2004). Plus récemment, McCormick *et al.* rapportent également des hémorragies et des œdèmes chez des poissons zèbres exposés à une concentration similaire (McCormick *et al.*, 2010).

7.6 Effets chez les mollusques

Les effets du BPA sur les mollusques sont les plus débattus par la communauté scientifique car ils apparaissent selon les études comme étant les organismes les plus sensibles au BPA et engendrant des effets importants.

Les effets du BPA ont été évalués chez l'escargot *Marisa cornuarietis*. Le composé, dès 0,25 µg/L, induit un syndrome de « superfemelle ». Les femelles sont caractérisées par une hypertrophie des glandes sexuelles accessoires, des malformations de l'oviducte, une surproduction ovocytaire d'où résulte une rupture de l'oviducte et une mortalité accrue. Ces effets ont été rapportés de façon répétée par la même équipe (Oehlmann *et al.*, 2000; Oehlmann *et al.*, 2006; Schulte-Oehlmann *et al.*, 2001). Les calculs des auteurs donnent une EC10 de 13,9 (Schulte-Oehlmann *et al.*, 2001) ou de 14,8 ng/L (Oehlmann *et al.*, 2006) sur la base de la production ovocytaire.

²⁰ Hpf = hour post-fertilization; Dpf = day post-fertilization

²¹ Otolithe : concrétion minérale (carbonate de calcium) contenue dans l'organe de l'équilibration

Les effets relatés chez *Marisa* n'ont pas été observés par Forbes *et al.* pour des expositions à 0, 0,1, 1, 16, 160 ou 640 µg/L BPA (Forbes *et al.*, 2007). Cependant aucun témoin positif n'a été utilisé dans cette étude. En particulier, rien n'indique que le test utilisé puisse permettre de mettre en évidence un quelconque effet délétère sur les organes reproducteurs tels que ceux décrits par Oehlmann *et al.* (Oehlmann *et al.*, 2000; Oehlmann *et al.*, 2006). Aucune étude histologique des organes reproducteurs n'a été menée.

Le phénotype « superfemelle » (sauf les malformations de l'oviducte), et pour les mêmes doses d'exposition (1-100 µg/L), a été observé chez l'espèce marine *Nucella lapillus* (Oehlmann *et al.*, 2000). De plus, les mâles montrent un pénis et une prostate réduits, ainsi qu'une diminution de la concentration spermatique. Chez *Potamopyrgus antipodarum*, une augmentation dose-dépendante de la production d'ovocytes et de jeunes est observée lors d'exposition à 1 µg/kg de BPA dans le sédiment (Duft *et al.*, 2003). Des résultats similaires ont été rapportés lors d'exposition via l'eau. Une induction de la production d'œufs et de jeunes était notée dès 1 µg/L et de façon dose-dépendante jusqu'à 25 µg/L puis un effet négatif pour 100 µg/L BPA (Jobling *et al.*, 2004).

Les travaux conduits par l'équipe d'Oehlmann semblent indiquer que les effets sont similaires à ceux induits par des composés œstrogéniques pour des vertébrés (Oehlmann *et al.*, 2000; Oehlmann *et al.*, 2006). L'effet antagoniste de composés anti-œstrogéniques (pour les vertébrés) appuient ces affirmations. Cependant l'importance des stéroïdes sexuels tels que l'œstradiol pour la physiologie des mollusques est encore débattue. Il est à noter, en particulier, que l'homologue du récepteur de l'œstradiol présent chez les mollusques ne lie pas cette hormone.

Des travaux sur le développement embryonnaire de l'ormeau (*Haliotis diversicolor supertexta*) ont été menés par Zhou *et al.* pour des doses d'exposition de BPA de 0,05 à 10 µg/L (Zhou *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2011). Des augmentations significatives de malformations à différents stades de développement ont été observées dès 0,2 µg/L et atteignent plus de 40% des embryons à 2 µg/L. Seuls 10% des larves trochophores se transforment en larves véligères à 10 µg/L tandis qu'un effet significatif (40% d'échec) est apparent dès 0,2 µg/L. La métamorphose est aussi affectée. Les concentrations de 0,2 et 2 µg/L réduisent d'un facteur 3,2 et 3,6 le processus et pratiquement aucune larve ne subit de métamorphose à 10 µg/L. Les effets du BPA sont accompagnés de modifications importantes du protéome, affectant différentes protéines en lien avec l'équilibre oxydatif, l'homéostasie, le métabolisme hormonal ou l'immunité.

7.7 Conclusion

Les études écotoxicologiques permettent de montrer que :

- Le bisphénol A est susceptible d'induire des modifications physiologiques importantes via son activité œstrogénique. La présence et l'implication de l'œstradiol dans un grand nombre de groupes zoologiques depuis les cnidaires permettent de penser qu'un nombre très important d'espèces puisse être perturbé *via* ce mécanisme bien que la spécificité, la distribution et la sensibilité des récepteurs hormonaux puissent varier dans une très large mesure selon le groupe considéré.

Les rapports concernant le développement laissent penser que l'activité œstrogénique n'est pas la seule voie d'interaction avec la physiologie des organismes exercée par le BPA. L'axe thyroïdien en particulier serait sensible à ce composé et les actions, selon les groupes zoologiques et/ou les doses, pourraient être agonistes ou antagonistes.

- Au-delà des mécanismes d'action, les études écotoxicologiques indiquent que des effets très importants notamment concernant la reproduction et le développement, peuvent affecter les espèces sauvages et que ces effets se manifestent à des concentrations susceptibles d'être rencontrées dans l'environnement.

8 Discussion - conclusion

8.1 Limites méthodologiques

Les données actuellement disponibles chez l'Homme concernant le lien entre une exposition au BPA et des effets sur la santé sont jugées par le groupe de travail très limitées et insuffisantes pour être utilisées de prime abord pour conduire une ERS quantitative. Les résultats issus d'études de qualité acceptable et d'études présentant des limites méthodologiques non majeures ont cependant été utilisés pour classer les effets du BPA sur la base des données humaines.

La littérature concernant la toxicité du BPA est assez riche pour ce qui est des données observées chez l'animal. Ces études ont été réalisées, soit dans un contexte d'évaluation réglementaire et, dans ce cas, elles suivent des lignes directrices officielles et sont réalisées en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire, soit dans un but de recherche avec des modèles adaptés aux hypothèses testées. Ce second type d'études s'inscrit souvent plus dans le champ de l'hypothèse de perturbation endocrinienne aux faibles doses, alors que les premières s'intéressent plus spécifiquement à des effets critiques tels que malformations, croissance, survie des portées, distance ano-génitale, âge à la puberté, cycle oestral ... Le groupe de travail a considéré l'ensemble de ces études, quelle que soit leur origine, mais les a analysées au regard des critères définis dans la section méthodologique de ce rapport. Les experts ont ainsi cherché à retenir pour un effet donné un faisceau de preuves permettant de classer la nature des effets du BPA.

Les résultats des études sont, pour un même organe cible, souvent discordants. Les principales expertises antérieures à ce travail avaient déjà soulignées ce fait et les experts du groupe de travail de l'Anses le confirment. Ceci peut s'expliquer par diverses raisons, en particulier :

- **Influence de la voie d'administration** : la voie orale est généralement considérée comme étant la principale voie d'exposition de la population générale au BPA. Les études expérimentales réalisées par cette voie sont jugées les plus pertinentes par les instances d'expertise pour évaluer les risques chez l'Homme, notamment en lien avec une exposition alimentaire (EFSA, 2010; FAO/OMS, 2010; Hengstler *et al.*, 2011). Or, la plupart des études récentes montrant des effets du BPA à des doses faibles ont exposé les animaux par voie sous-cutanée, soit par injection, soit *via* des pompes osmotiques implantées sous la peau. Bien que cette voie d'exposition ne soit pas une voie d'exposition naturelle de l'Homme au BPA, les résultats de ces études n'ont pas été écartés par le groupe de travail. Cependant, avant de pouvoir les utiliser en évaluation des risques, il est nécessaire de pouvoir relier les niveaux des expositions systémiques atteints lors de ces études chez l'animal aux expositions systémiques chez l'Homme,

via une exposition orale ou cutanée. Certains auteurs mettent en avant l'absence d'effet de premier passage hépatique pour expliquer les différences d'effets observées entre la voie orale et sous-cutanée (Hengstler *et al.*, 2011). **Une analyse approfondie des données de toxicocinétique du BPA selon les espèces et selon les voies d'exposition est en cours afin de pouvoir établir des correspondances entre ces diverses études et les niveaux d'exposition chez l'Homme.**

- **L'absence de contrôle** lors de l'étude de la **contamination en BPA** ou **la présence de phytoestrogènes** dans le régime alimentaire qui peuvent entraîner des biais. Plusieurs études « anciennes » n'ont pas pris en compte les apports exogènes en BPA, via les biberons ou les cages par exemple, ou en phytoestrogènes dans l'alimentation. L'absence de contrôles de ces paramètres peut influencer sur l'interprétation des résultats des études. En effet, les cages, la litière, l'alimentation et l'eau peuvent être à l'origine d'une exposition « parallèle » non maîtrisée et ainsi moduler l'activité estrogénique. De plus, les études utilisent une exposition au BPA à des doses de plus en plus faibles et, donc, de plus en plus proches du bruit de fond. Cependant, la plupart des études comporte un groupe contrôle dont les animaux sont hébergés et nourris dans les mêmes conditions que le groupe traité et qui, donc, ne diffèrent qu'en termes de doses de BPA administrées. **Les experts n'ont pas rejeté a priori ce type d'études mais les ont considérées au cas par cas, en fonction des différences observées entre les animaux traités et les animaux témoins.**
- **L'absence de témoin positif ou un témoin positif inapproprié** peuvent également rendre difficile l'interprétation d'une étude. Cependant le groupe de travail a considéré que, dans certaines études, le choix du témoin positif sous-tendait une hypothèse sur le mécanisme d'action du BPA (par exemple si le témoin positif est du DES ou du 17- β œstradiol, l'implication d'un mécanisme d'action oestrogénique est implicite); or on sait désormais que les effets du BPA peuvent être médiés par d'autres voies que celles des œstrogènes et donc une non réponse d'un témoin dit positif n'est pas forcément un critère de mauvaise qualité de l'étude. **Les experts n'ont pas rejeté a priori ce type d'études mais les ont considérées au cas par cas.**
- **Le nombre insuffisant d'animaux** peut être considéré comme une limite méthodologique de l'étude. Une étude sur un nombre limité d'animaux ne montrant pas d'effet du BPA peut être considérée comme n'étant pas suffisamment puissante pour mettre en évidence l'effet investigué. A l'inverse, une absence d'effet rapportée sur un échantillon de taille suffisante peut être considérée avec un niveau de confiance élevé. Cependant un nombre suffisant d'animaux ne peut pas être déterminé pour chaque type d'effets. Pour les effets ne présentant pas une forte variabilité, un nombre minimal de 6 animaux peut généralement être considéré comme suffisant. Si l'effet recherché présente une forte variabilité (dosage hormonal, nombre de spermatozoïdes par éjaculat,...), un nombre plus élevé d'animaux est nécessaire.

- Dans le même ordre d'idée, d'un point de vue statistique, il est important pour les études qui examinent des effets sur la descendance de tenir compte de l'« effet portée ». Il s'agit de préférer une analyse statistique prenant en compte, non pas le nombre total d'animaux de la descendance indépendamment de la mère dont ils sont nées, mais de tenir compte du nombre de portées atteintes. Cette limite est assez souvent rencontrée dans les études les plus anciennes et conduit à surestimer la signification statistique des effets observés.

Pour l'ensemble de ces raisons, le groupe s'est attaché à indiquer les limites méthodologiques identifiées dans les études et à prendre position sur l'inclusion ou non des résultats de ces études dans l'expertise. Un critère important pour cette analyse est la reproductibilité des études; en effet un effet rapporté par une seule publication ou une seule équipe, selon un même modèle expérimental doit être reproduit par une autre équipe dans des conditions comparables pour être considérés comme un effet avéré. Or, pour la plupart des effets rapportés en lien avec une exposition au BPA, soit les études non pas été reproduites, dans ce cas l'effet est considéré au mieux « suspecté » si l'étude ne présente pas de biais méthodologique majeurs, soit les études ont été répétées mais ont conduit à des résultats divergents ; dans ce cas, l'effet est considéré comme « controversé ». L'arbre décisionnel suivant a été utilisé (Figure 7)

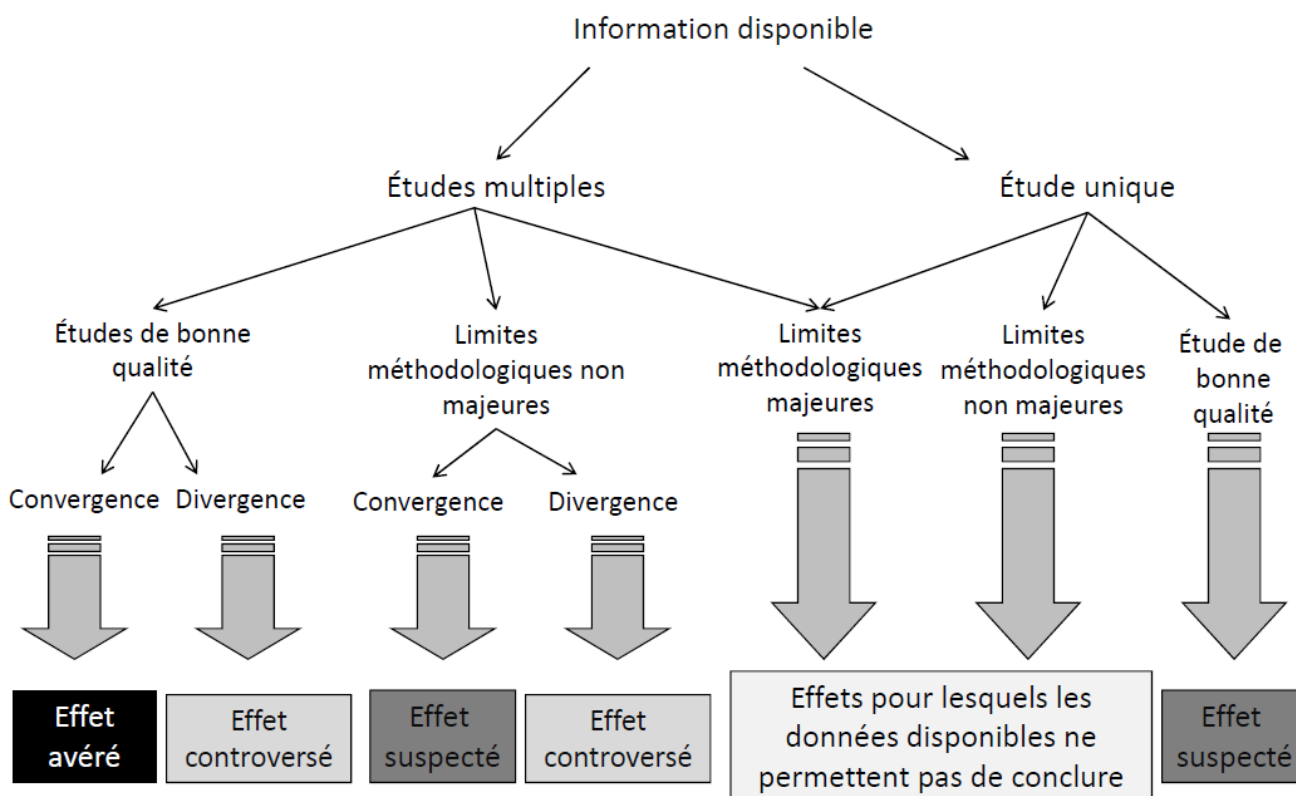


Figure 7 : Arbre de décision

- **Mécanisme d'action :** Pour qu'un effet du BPA chez l'animal puisse être transposé à l'Homme, la connaissance du mécanisme d'action est un élément important à prendre en compte. Le BPA est considéré comme un agoniste faible des récepteurs aux œstrogènes α et β . L'ensemble des mécanismes d'action du BPA n'est pas encore connu avec certitude. Le BPA pourrait également interagir avec d'autres récepteurs cellulaires, dont le récepteur des androgènes, le récepteur des hydrocarbures aromatiques, le récepteur des œstrogènes γ , le récepteur transmembranaire des œstrogènes, les récepteurs des hormones thyroïdiennes,... Par conséquent, une interprétation des effets du BPA uniquement sous l'angle d'un effet œstrogénomimétique serait trop simpliste. L'implication de plusieurs de ces systèmes lors d'une exposition au BPA pourrait expliquer certains effets observés à des faibles doses, du fait d'une synergie d'action possible, mais aussi les relations dose-réponse non linéaires rapportées par certaines études. En effet, des réponses marquées à des faibles doses sur une voie hormonale donnée, pourraient déclencher des phénomènes de rétrocontrôle, bien connus pour certaines hormones, avec des effets observés moins importants à des doses plus élevées de BPA. Enfin, des mécanismes d'action autres que ceux passant par des liaisons à des récepteurs hormonaux sont évoqués, tels que l'activation de l'expression de certains gènes au niveau embryonnaire, la modulation de systèmes de second messager, ou encore les voies de synthèse ou de dégradation des hormones.

8.2 Caractéristiques liées à l'évaluation des effets toxicologiques du BPA

8.2.1 Méthodes expérimentales

Il convient de souligner que les tests réglementaires OCDE ne sont pas toujours adaptés pour évaluer les effets de substances ayant ces types de mécanisme d'action.

Par exemple, les protocoles d'études de cancérogenèse OCDE ne prévoient pas d'exposer les animaux *in utero* et de les suivre durant leur vie entière. De même les études de fertilité ne prévoient pas de suivre les portées successives de mères exposées *in utero*. Or, une étude récente sur le BPA a mis en évidence à l'issue de plusieurs gestations, une diminution de la fertilité chez des souris exposés *in utero* au BPA (Cabaton *et al.*, 2010). De plus, il est important de souligner également que de nombreuses études d'origine académique et/ou gouvernementale examinent des effets tels que la neurotoxicité du développement (MacLusky *et al.*, 2005), des modifications de la prostate (Prins *et al.*, 2011) et du sein (Durando *et al.*, 2007; Murray *et al.*, 2007) alors que les tests toxicologiques réglementaires actuels n'incluent pas à l'heure actuelle des examens aussi détaillés pour ce type d'organe. Ces investigations ne sont donc pas aussi poussées que celles conduites dans les études d'origine académique. De plus, une autre différence majeure entre les tests toxicologiques dits réglementaires et académiques réside dans la période de traitement des animaux et de leurs examens post-traitement. Cet élément doit être mis en perspective avec les fenêtres de susceptibilité (cf. chapitre 8.2.2).

8.2.2 Fenêtre de susceptibilité

Depuis quelques années, la période d'exposition est considérée comme un paramètre qui peut largement influencer sur la toxicité d'une substance. Ainsi une exposition pendant une période dite de « susceptibilité » pourra entraîner une toxicité plus importante qu'une exposition à un même niveau de dose pendant une autre période. En outre, une exposition pendant la période de développement peut entraîner une toxicité avec des effets qui pourront apparaître plusieurs années, voire plusieurs décennies après. Ces observations sont notamment à l'origine des appellations d'origine « fœtales » ou « développementales » des maladies.

Dans ce rapport, les experts se sont attachés à bien différencier les effets observés à l'issue d'une exposition prénatale, périnatale ou à l'âge adulte, ...

Enfin, une extrapolation dans le temps doit-être réalisée afin de remédier aux différences de longévité. En effet, les étapes les plus précoces de la spermatogénèse sont initiées peu après la naissance chez les rongeurs et s'achèvent à 6-8 semaines, tandis que ces événements surviennent vers 12-15 ans chez les garçons (Figure 8). De la même façon, la maturation des organes formant l'axe HT-HP qui régulent le cycle oestral est complète à 15 jours chez les rongeurs, alors que cet événement intervient à 10-12 ans chez les filles. Les périodes de différenciation ovarienne sont également différentes en fonction des mammifères concernés (Figure 9). A souligner également, les différentes périodes de développement de la prostate chez l'homme comparé au rongeur (Figure 10).

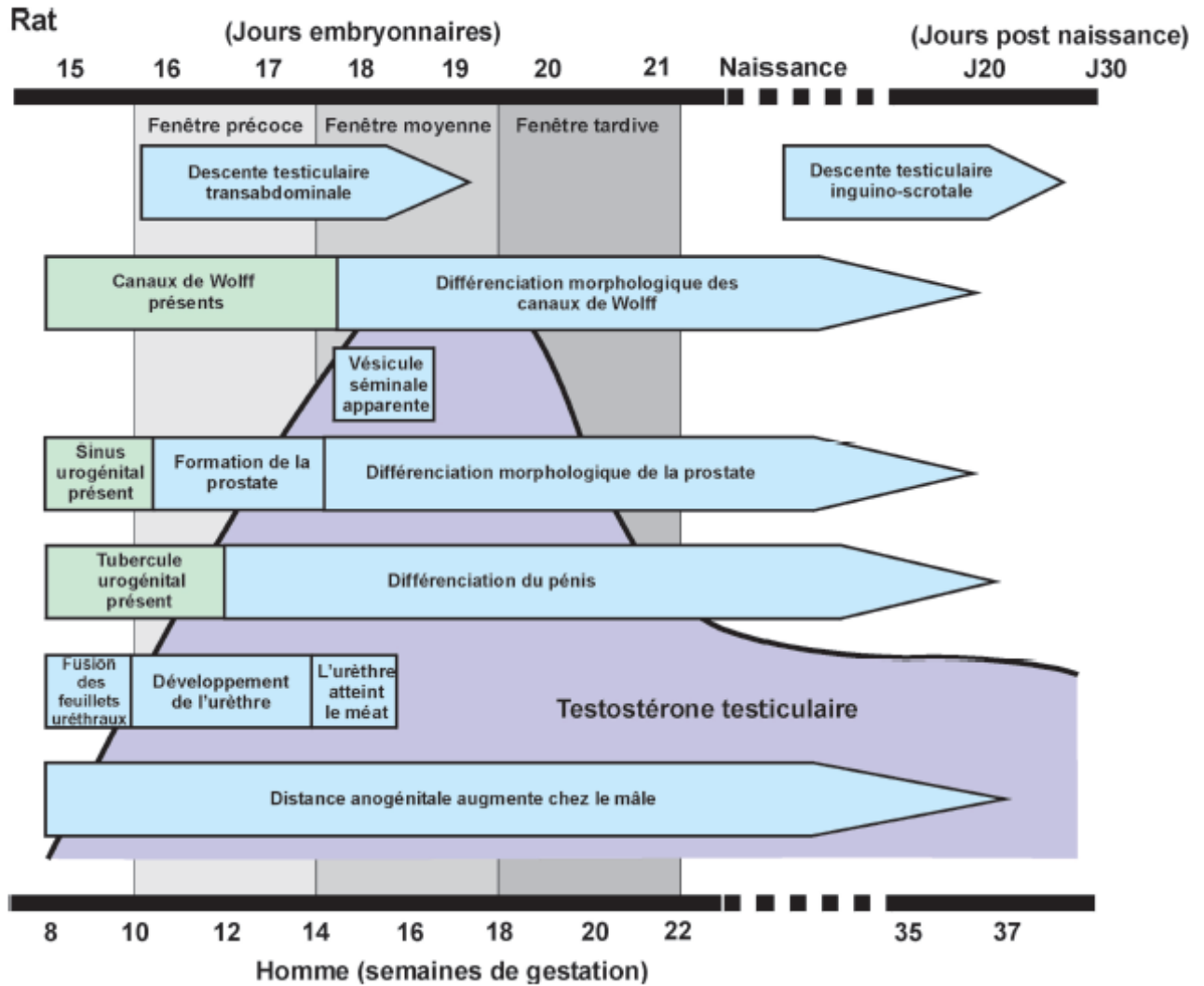


Figure 8 : Diagramme représentant les principales périodes du développement du tractus génital mâle chez l'humain et le rat, en relation avec le niveau de production de testostérone (Welsh et al., 2008)

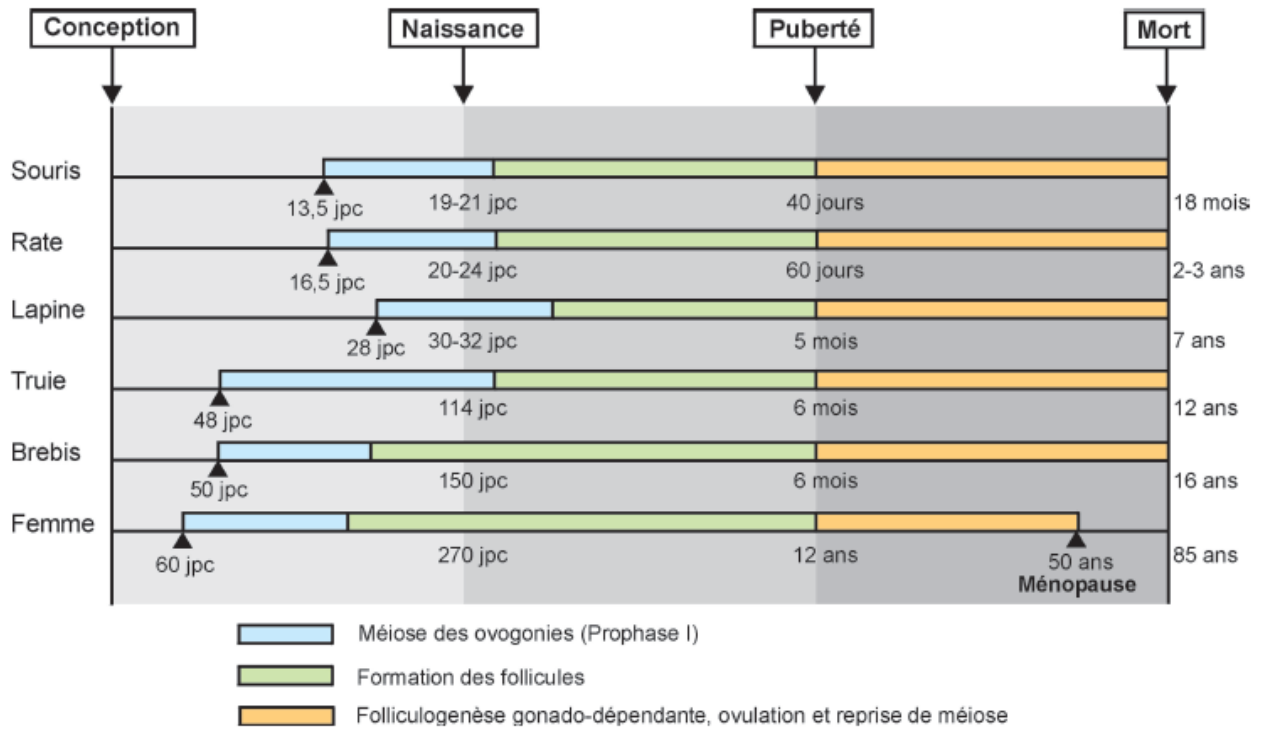
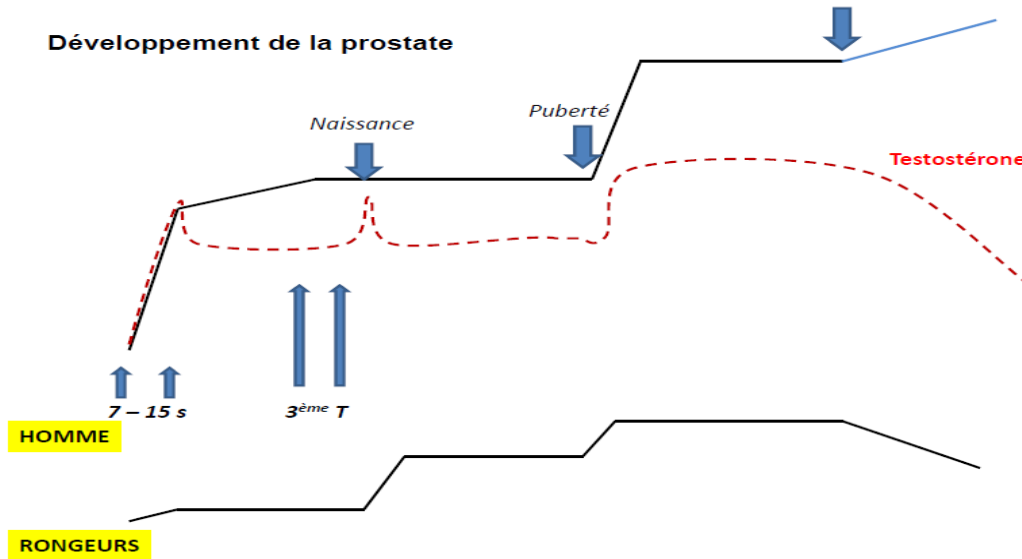


Figure 9 : Comparaison des périodes de différenciation ovarienne chez différents mammifères (Inserm, 2011)



Légende : Ligne en pointillé en rouge : testostéronémie
 Ligne noire continue : poids (ou volume) de la prostate.
 Flèche bleue : indique les différentes périodes de la vie : naissance, puberté, climatère.

Figure 10 : Représentation schématique des périodes de développement de la prostate chez l'homme versus rongeur

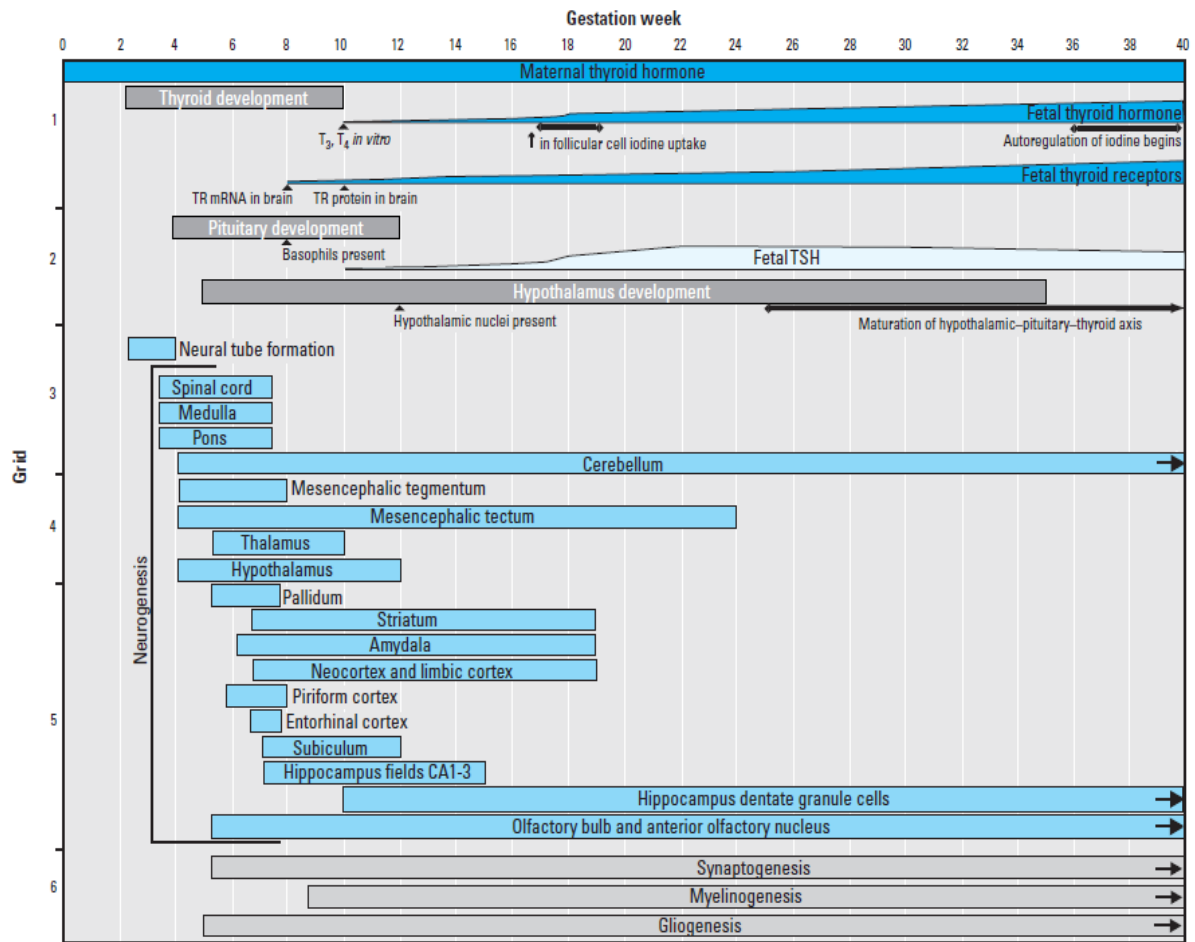


Figure 11 : Période de développement de la thyroïde et du cerveau de la conception à la naissance (Bayer *et al.*, 1993; Howdeshell 2002)

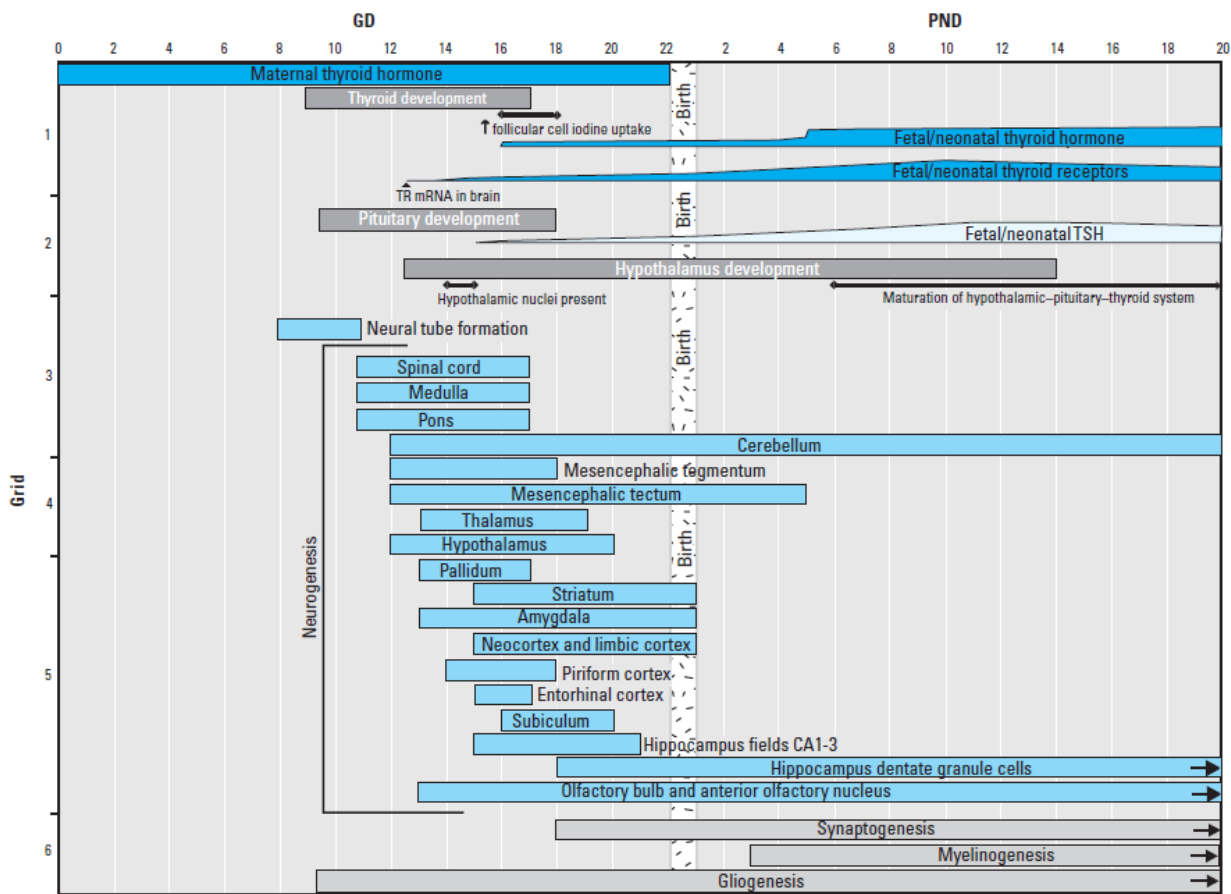


Figure 12 : Période de développement de la thyroïde et du cerveau de la conception au PND20 chez le rat. GD0 correspond au jour de la conception et PND1 correspond au jour de la naissance (Bayer *et al.*, 1993; Howdeshell 2002)

C'est pourquoi il est important lors de l'évaluation des effets sanitaires du BPA de s'assurer que la fenêtre de susceptibilité pour un effet donné a bien été couverte lors du choix de la période d'exposition et du moment auquel les effets ont été recherchés.

Par ailleurs, un même effet peut être initié par des mécanismes d'action différents qui ne seront pas nécessairement perturbés par les mêmes facteurs. Par exemple, la masculinisation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope (HT-HP-G) intervient autour de la naissance chez le rongeur mâle et est partiellement médiée par l'œstradiol produit localement dans le cerveau à partir de la testostérone circulante. En revanche, chez l'Homme, cette étape de développement est initiée au 3^{ème} trimestre de la grossesse et est conduite essentiellement pas les androgènes, sans implication des estrogènes.

8.2.3 Transposition des données animales à l'Homme

Dans la situation la plus favorable, les données observées chez l'Homme peuvent permettre de mettre en évidence un effet, voire un mécanisme d'action. Dans ce cas, la discussion sur la transposition de l'animal à l'Homme n'a pas d'objet.

Les éléments suivants sont à considérer en vue de discuter de la transposition du mécanisme d'action explicité chez l'animal :

- la toxicocinétique : prise en compte des données de biodisponibilité et de métabolisme chez l'animal et l'Homme : similitudes, différences notables ?
- les effets : sont-ils identiques chez l'animal et l'Homme ? Peut-on considérer que les effets observés chez l'animal peuvent se produire chez l'Homme en l'absence de données humaines et d'éléments de preuve permettant d'exclure une transposition chez l'Homme des effets observés chez l'animal (spécificité d'espèces, différences entre les espèces de laboratoire si plusieurs testées, etc.) ?
- les mécanismes d'action : sont-ils spécifiques à l'animal ou bien peuvent-ils être considérés *a priori* comme similaires chez l'animal et chez l'Homme ?

Concernant le BPA, les données les plus exploitables, en termes d'évaluation des effets sanitaires, proviennent d'études conduites chez l'animal. Les résultats observés chez l'animal doivent donc tenir compte des différences entre les espèces qui peuvent limiter la transposition pure et simple des résultats des rongeurs aux Humains.

La discussion sur la pertinence de transposer les effets observés chez l'animal à l'Homme prend ici tout son sens, afin notamment de considérer comme valides pour l'Homme tout ou une partie des données observées chez l'animal. Les mécanismes d'action afférant à ces effets sont des éléments complémentaires à prendre en compte lorsque ce type d'information est disponible. Cependant, l'absence d'identification d'un mécanisme d'action n'est pas un élément permettant d'éliminer la prise en compte d'un effet pour l'évaluation des impacts sanitaires.

Enfin, les différences de période de développement sont à prendre en compte : les étapes les plus précoces de la spermatogénèse chez les rongeurs sont initiés peu après la naissance et s'achèvent à 6-8 semaines, alors que ces événements surviennent vers 12-15 ans chez les garçons. De la même façon, la maturation des organes formant l'axe HT-HP qui régule le cycle oestral est complète à 15 jours chez les rongeurs, alors que cet événement intervient à 10-12 ans chez les filles (Figure 9).

C'est pourquoi il est important lors de l'extrapolation des effets observés chez les rongeurs aux humains de tenir compte de ces différences.

8.2.4 Problématique des relations dose-effet non- monotones

Les fondements de la toxicologie ont longtemps reposé sur la notion de relation dose-effet monotone. Selon cette hypothèse, c'est la dose qui gouverne l'intensité des effets observés et une exposition à une dose « n » donnée sera considérée comme entraînant une toxicité plus importante qu'une exposition à une dose moindre. En particulier, la mise en évidence d'une relation dose-réponse monotone est un critère contribuant au jugement de causalité. Parfois, des courbes doses-réponse multiphasique peuvent être disqualifiées dans un comité d'évaluation réglementaire comme étant « contraire aux principes universels de la toxicologie ».

Afin d'évaluer si des relations dose-réponse non-monotones sont observées avec le BPA ; les experts ont recherché dans les études qu'ils ont eu à analyser, celles pour lesquelles les effets aux faibles doses sont plus importants que ceux observés à des doses plus élevées décrivant une relation dose-réponse non monotone pour un effet donné.

- Par exemple, lors de **l'étude des effets du BPA sur l'anxiété**, il a été constaté que les résultats obtenus par Poimenova *et al.* étaient en faveur d'une augmentation de l'anxiété chez des femelles F1 nées de mères exposées au BPA à 40 µg/kg pc/j dans l'alimentation, durant la gestation et la lactation (Poimenova *et al.*, 2010). Par contre, dans les travaux de Tian *et al.* mettant en œuvre des doses de BPA de 100 et 500 µg/kg pc/j chez la souris, en exposition prénatale et post-natale (de GD7 à PND36), l'effet du BPA est plutôt d'ordre anxiolytique à 100 µg/kg pc/j, contrairement à l'effet anxiogène rapporté par Cox *et al.* à la dose de 8 mg/kg pc/j (Cox *et al.*, 2010; Tian *et al.*, 2003). La question reste donc posée de savoir si une différence de doses d'un facteur 80 peut expliquer des effets différentiels anxiogènes/anxiolytiques du BPA. Les études de Tian *et al.* sont cependant à considérer avec prudence, car les groupes expérimentaux d'individus ne comprenaient que deux mères (Tian *et al.*, 2010). Les périodes d'exposition dans ces 3 études ne sont pas non plus directement superposables, ce qui limite l'interprétation des différences observées.
- Concernant les **effets sur la lipogenèse**, dans l'étude de Sargis *et al.*, l'action du BPA sur l'induction de l'adiponectine présente une courbe en cloche avec un effet visible à partir de 10 nM et maximum à 100 nM, et un effet non visible à 1 µM (Sargis *et al.*, 2010). Une relation dose-réponse identique est observée avec la dexaméthasone. Les effets négatifs sur l'expression de l'adiponectine observés par Kidani *et al.* ne sont donc pas surprenants dans la mesure où ils se produisent à des concentrations supérieures à 1 µM (Kidani *et al.*, 2010). Ainsi, à faibles doses, le BPA induirait l'expression d'adiponectine et la réprimerait à des doses plus fortes (qui sont déjà faibles).

- Concernant les **effets sur la thyroïde**, Xu *et al.* considèrent qu'une relation dose – effet non-monotone a été observée pour les tests de comportement (cf. chapitre 6.6.2) (Xu *et al.*, 2007).

- Des relations non monotones du BPA sur le **système reproducteur mâle** ont été rapportées dans plusieurs études :
 - sur **des cellules séminales humaines**. A des concentrations élevées, le BPA exerce *in vitro* un effet suppresseur sur des cellules issues d'une lignée cellulaire tumorale de séminomes d'origine humaine. Cet effet apparaît *via* l'activation du récepteur ER β (l'affinité du BPA pour ce récepteur est 1000 fois inférieure à celle de l'œstradiol, ce qui neutralise les effets non génomiques, médiés par des voies de signalisation membranaire conduisant à un influx de calcium par exemple). A faibles concentrations (10^{-9} M), cet effet génomique disparaît, ce qui conduit à l'expression des effets non génomiques médiés par un récepteur GPCR (G-protein-coupled nonclassical membrane ER), un ncmER pour lequel le BPA présente une forte affinité. Lorsqu'ils sont présents simultanément à des faibles concentrations, le BPA et l'œstradiol présentent ainsi des effets antagonistes (Bouskine *et al.*, 2009). Ceci pourrait expliquer les courbes en U décrits dans plusieurs modèles (Maffini *et al.*, 2006; vom Saal et Hughes, 2005; Welshons *et al.*, 2006), qui pourraient être dus à deux différents types de récepteurs ER ainsi qu'à des mécanismes génomiques et non génomiques (Bouskine *et al.*, 2009).

 - Selon Gupta, des doses faibles de BPA (50 $\mu\text{g}/\text{kg pc/j}$) administrées à des souris en gestation entraînent une augmentation de la taille de la prostate chez les descendants F1, associée à une augmentation de l'activité du récepteur aux androgènes (Gupta 2000). Aucun effet sur la taille ou le poids des testicules n'a été observé. Le DES quant à lui, à la dose de 100 $\text{ng}/\text{kg pc/j}$, montre des effets comparables, alors qu'à une dose plus forte (200 $\mu\text{g}/\text{kg pc/j}$), une diminution du poids de la prostate, de l'activation des récepteurs aux androgènes et de la distance ano-génitale est observée. Ces effets ont été reproduits *in vitro* sur des cultures de tractus urogénital fœtal, ce qui serait en faveur d'un effet direct de ces molécules au niveau des organes reproducteurs en développement.

 - Chez des souris exposées à des doses de BPA de 2 $\mu\text{g}/\text{kg pc/j}$ ou 20 $\mu\text{g}/\text{kg pc/j}$ de GD11 à GD17, une augmentation de la taille des glandes préputiales mais une diminution de la taille de l'épididyme ont été observées à la plus faible dose. A une dose dix fois supérieure, une diminution de la production quotidienne de

spermatozoïdes par gramme de tissu a été observée (20% de moins par rapport au groupe contrôle) (vom Saal *et al.*, 1998).

En conclusion, parmi les études montrant des effets du BPA aux faibles doses, un certain nombre mettent en avant des relations dose-effet non monotones. Cependant, afin de pouvoir correctement appréhender la relation dose-réponse du BPA, il convient de suivre un même effet dans un même modèle d'étude et sur une gamme de doses suffisante. Or la plupart des études sur le BPA se situent, soit à des niveaux de doses élevés, soit pour les plus récentes, à des très faibles doses, mais assez peu d'études ont exposé des animaux avec un nombre suffisant de doses couvrant plusieurs logarithmes (exemple 0,1 - 1 - 5 - 10 - 50 - 100 - 500 - 1000).

8.3 Synthèse des conclusions du rapport sur les effets sanitaires

8.3.1 Effets avérés

- Chez l'Homme, l'insuffisance de données disponibles ne permet pas de conclure à un effet avéré. .
- Chez l'animal (rongeurs ou mouton), les effets suivants sont considérés comme avérés:
 - Sur l'appareil reproducteur mâle : une diminution de la production spermatique après une exposition uniquement à l'âge adulte;
 - Sur l'appareil reproducteur femelle,
 - Augmentation de la survenue de kystes ovariens à l'âge adulte due à une exposition pré et post-natale ;
 - Modifications de l'endomètre (hyperplasie) à l'âge adulte dues à une exposition pré et/ou post-natale ; effets sur l'axe hypothalamo-hypophysaire entraînant des variations des taux d'hormones gonadotropes et les modifications de l'expression des récepteurs des stéroïdes sexuels dues à une exposition prénatale ; avancement de l'âge à la puberté lors d'exposition (pré et post-natales précoces).
 - Sur le développement cérébral en lien avec une exposition pré- et/ou post-natale : modifications du profil de neuro-différenciation en lien avec le dimorphisme sexuel, altérations des systèmes aminergique et glutamatergique NMDA, modifications de l'expression des récepteurs aux œstrogènes α et β et du nombre de neurones sensibles à l'ocytocine et à la sérotonine ;

- Sur la glande mammaire :
 - Accélération de la maturation architecturale de la glande mammaire et développement d'hyperplasies intracanalaires suite à une exposition pré- ou périnatale.
 - Augmentation de la susceptibilité des glandes mammaires à développer ultérieurement des tumeurs mammaires (lors de co-expositions avec un agent carcinogène) en lien avec une exposition foétale ou périnatale ;
- Effets sur la lipogenèse : hypertrophie des adipocytes, prédisposition à la surcharge pondérale, augmentation de cholestérolémie, de la triglycéridémie, de la sur-expression des gènes des protéines lipogènes suite à une exposition pré- et périnatale et chez l'adulte.

8.3.2 Effets non avérés

• Effets controversés

- Chez l'homme sur la base des données disponibles, les effets du BPA sur le système reproducteur masculin sont considérés comme « controversés ».
- Chez l'animal, sont considérés comme controversés les effets suivants :
 - Effets sur le système reproducteur mâle dus à une exposition pendant les périodes d'exposition prénatale, néonatale et post-natale (lactation) : poids des organes, spermatogenèse, production spermatique, dosages hormonaux, puberté, ... ;
 - Effets sur le système reproducteur femelle (issues de gestations et expression des récepteurs aux oestrogènes α et à la progestérone dans le tractus génital) suite à une exposition chez l'adulte ;
 - Effets sur l'anxiété chez l'animal juvénile et chez l'adulte, le comportement exploratoire et le dimorphisme sexuel comportemental en lien avec une exposition pré ou périnatale ;
 - Avance de l'âge d'ouverture vaginale ou de l'âge au premier oestrus, (marqueurs de maturité sexuelle) suite à une exposition pré et/ou post-natale
 - Effets sur le métabolisme du glucose chez l'animal juvénile et chez l'adulte suite à une exposition pré- et périnatale ;
 - Augmentation du poids et du volume de la prostate suite à une exposition prénatale, périnatale ou à l'âge adulte ;
 - Lésions pré-néoplasiques de type PIN suite à une exposition néonatale.

- **Effets suspectés**

- Chez l'Homme, sur la base des données disponibles, les effets suivants sont considérés comme « **suspectés** » :
 - Anomalies de la maturation ovocytaire dans un contexte de procréation médicalement assistée ;
 - Pathologies cardiovasculaires et diabète (une seule étude transversale).
- Chez l'animal, sont considérés comme suspectés les effets suivants :
 - Effets sur le système reproducteur mâle (diminution des concentrations plasmatiques de testostérone, modification du comportement sexuel) dus à une exposition pendant la période pubertaire ;
 - Modifications du comportement maternel (diminution du temps passé avec leurs petits (nursing) et du comportement de nidification) en lien avec une exposition post-natale ;
 - Effets sur la thyroïde : modifications de la T4 libre et totale variables selon le stade de développement post-natal, suite à une exposition prénatale ou néonatale ;
 - Développement de lésions néoplasiques mammaires (CCIS carcinomes canaux *in situ*) après une exposition périnatale ;
 - Effet sur l'intestin : augmentation de la réponse inflammatoire et diminution de la perméabilité intestinale à l'âge adulte chez des femelles exposées en périnatal.

8.3.3 Effets pour lesquels les données ne permettent pas de conclure

- Chez l'Homme, le Groupe de travail a considéré que les données humaines disponibles étaient insuffisantes à ce jour pour conclure sur les effets suivants :
 - Effets sur l'endomètre (endométriose, hyperplasie), ovaires polykystiques et issue de la grossesse (fausse-couches et prématurité) ;
 - Troubles du comportement chez l'enfant ;
 - Effets sur la thyroïde ;
 - Cancer du sein.
- Chez l'animal, aucun effet n'a été classé dans cette catégorie car l'ensemble des effets ont été classés soit comme avérés, suspectés ou controversés.

8.4 Conclusions par organes ou systèmes

Ces conclusions s'appuient sur les résultats de données humaines disponibles à ce jour ainsi que sur des données expérimentales obtenues à des doses inférieures au NOAEL de 5 mg/kg pc/j ayant servi à dériver la DJT actuelle établie par l'EFSA.

8.4.1 Effets sur le système reproducteur mâle

Les experts soulignent la difficulté de conclure sur la base des études épidémiologiques car celles-ci ne sont pas totalement convergentes. Il est important de noter que les populations étudiées ne sont pas toujours les mêmes (hommes féconds et inféconds). Chez l'homme, les effets du BPA sur le système reproducteur masculin sont controversés.

Chez l'animal, les effets sur la production spermatique (diminution du nombre de spermatozoïdes) dus à une exposition de 5 semaines à l'âge adulte au BPA sont avérés. En effet, les résultats des études de Chitra *et al.* et Herath *et al.* par voie sous-cutanée sont convergents, pour une même période d'exposition (exposition limitée à l'âge adulte) (Chitra *et al.*, 2003; Herath *et al.*, 2004).

Chez l'animal, les effets sur le système reproducteur mâle dus à une exposition pendant les périodes d'exposition prénatale, néonatale et post-natale (lactation) sont controversés.

Chez l'animal, les effets sur le système reproducteur mâle (diminution des concentrations plasmatiques de testostérone, modification de l'activité sexuelle) dus à une exposition pendant la période pubertaire, sont suspectés.

- L'altération de la production spermatique est un effet à retenir pour l'évaluation des risques sanitaires.

8.4.2 Effets sur le système reproducteur femelle

Le nombre d'études épidémiologiques examinant un lien entre une exposition au BPA et des effets sur la reproduction chez la femme sont relativement peu nombreuses. Ces études présentent des limites méthodologiques (taille de la population étudiée, sélection des participants, analyses statistiques,...) les rendant difficilement interprétables. Des corrélations dans des populations (avec de nombreux facteurs de confusion possibles) ne sauraient être convaincantes que sur la base d'un très grand nombre d'observations et ce, quelle que soit l'approche statistique mise en place pour analyser ces données. Les données humaines sont donc à considérer avec la plus grande circonspection et ne sont en rien conclusives d'un effet du BPA sur les paramètres étudiés.

Les experts émettent ainsi des réserves sur l'ensemble des études épidémiologiques et considèrent, qu'en l'état actuel des connaissances, les données humaines relatives aux effets du BPA sur l'endomètre (endométriase, hyperplasie), les ovaires polykystiques et les issues de grossesse (fausse-couches et prématurité) ne permettent pas de conclure chez la femme.

L'effet du BPA sur la maturation ovocytaire chez la femme, dans un contexte de procréation médicalement assistée, est suspecté sur la base d'une étude de bonne qualité (Mok-Lin *et al.*, 2010) et d'une autre présentant des limites méthodologiques non majeures (Fujimoto *et al.*, 2011).

Chez l'animal, sur la base de la convergence de résultats de différentes études réalisées dans différentes conditions et sur différents modèles, les effets suivants peuvent être considérés comme « avérés chez l'animal » dans des protocoles d'exposition au cours du développement (exposition pré et post-natale) :

- Augmentation de la survenue de kystes ovariens,
- Modifications hyperplasiques de l'endomètre,
- Avancement de l'âge à la puberté lors d'exposition (pré et post-natales précoces).

Les effets sur l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadotrope due à une exposition *in utero* ou à une exposition post-natale précoce entraînant des variations des taux d'hormones sexuelles, et la modification de l'expression des récepteurs des hormones sexuelles ont été retrouvés dans plusieurs études. Ces effets sont « avérés chez l'animal ».

Chez l'animal, les effets potentiels d'une exposition chez l'adulte sont observés pour des doses bien supérieures au NOAEL retenue par l'EFSA (par exemple, nombre de sites d'implantation, remaniement histologique de la paroi utérine, morphologie du tractus génital,...).

- Les effets « avérés chez l'animal » sont des effets à retenir pour l'évaluation des risques sanitaires.

8.4.3 Effets sur le cerveau et le comportement

Chez l'Homme, le Groupe de travail a considéré que les données humaines disponibles étaient insuffisantes à ce jour pour conclure sur les effets du BPA sur le comportement.

Chez l'animal :

- Les effets en lien avec une exposition au BPA pré ou périnatale sur le développement cérébral sont confirmés par plusieurs études qui montrent, notamment, des modifications du profil de neurodifférenciation, des altérations des systèmes aminergique et glutamatergique NMDA, des modifications de l'expression des récepteurs oestrogènes ER α et ER β , et du nombre de neurones sensibles à l'ocytocine et à la sérotonine. Ces modifications interviennent particulièrement dans des régions telles que l'hypothalamus

(plus précisément dans des régions impliquées dans le dimorphisme sexuel) et dans l'hippocampe, région impliquée dans les activités cognitives et l'anxiété, notamment celles associées aux récepteurs NMDA. Ces effets neuraux pourraient expliquer en partie les effets comportementaux du BPA et permettre d'orienter les recherches de façon à confirmer ou infirmer les effets du BPA sur le dimorphisme sexuel comportemental, sur l'anxiété et le comportement exploratoire et orienter les recherches à venir. Ces modifications histologiques sur la neurogenèse sont retenues par le groupe de travail comme des effets « avérés chez l'animal ».

- Les études en lien avec une exposition au BPA pré ou périnatale sur l'anxiété ont été conduites avec des niveaux d'exposition qui ne sont pas directement superposables. Il a été observé une absence d'effet dans l'étude de Stump *et al.*, un effet anxiogène dans l'étude de Poimenova *et al.* et Cox *et al.* et un effet anxiolytique dans l'étude de Tian *et al.*, du BPA (Cox *et al.*, 2010; Poimenova *et al.*, 2010; Stump *et al.*, 2010; Tian *et al.*, 2010). Ainsi, compte tenu de ces résultats et ceux antérieurs à 2010, les effets, en lien avec une exposition au BPA pré ou périnatale, sur l'anxiété sont controversés chez l'animal, ainsi que ceux sur le comportement exploratoire et le dimorphisme sexuel comportemental.
 - Les modifications du comportement maternel en lien avec une exposition pré ou post-natale au BPA sont des effets suspectés.
- Ces modifications histologiques sur la neurogenèse sont des effets à retenir pour l'ERS.

8.4.4 Effets sur le métabolisme et le système cardio-vasculaire

Dans une étude transversale chez l'Homme, une corrélation a été observée entre les teneurs urinaires en BPA les plus élevées et des pathologies cardiovasculaires (maladies coronariennes) et le diabète (Melzer *et al.*, 2010). Le Groupe de Travail a considéré ces effets comme suspectés.

Chez l'animal, les études revues traitant des effets sur l'activité enzymatique, la croissance et le métabolisme suggèrent que les rongeurs exposés à l'âge adulte ou encore durant la gestation subissent des modifications au niveau du métabolisme des différents organes comme le foie, le tissu adipeux et le pancréas. De plus, quelques auteurs ont noté des changements dans l'expression des gènes codant pour des protéines intervenant dans les voies de signalisation cellulaire impliquées dans la lipogenèse et le métabolisme glucidique. Il se dégage une tendance montrant des effets *in vivo* sur la lipogenèse. Des études mécanistiques *in vitro* confortent ces observations.

Cependant, l'absence de répétabilité des effets rapportés ne permettent pas de confirmer les effets sur le métabolisme glucidique.

Ainsi, chez l'animal, le BPA induit une augmentation de la lipémie, une tendance à la surcharge pondérale et une activation de la lipogenèse. Les effets sur la lipogenèse suite à une exposition prénatale et périnatale ou chez l'adulte sont considérés comme avérés (données *in vivo* et *in vitro*). Les effets sur le métabolisme du glucose suite à une exposition prénatale et périnatale au BPA sont controversés.

- Les modifications du métabolisme des lipides sont des effets à retenir pour l'ERS.

8.4.5 Effets sur la thyroïde

Chez l'Homme, les données sont considérées comme limitées et peu conclusives car, d'une part, le protocole paraît peu adapté à une évaluation de la fonction thyroïdienne et, d'autre part, les effets observés (corrélation négative entre BPA et TSH) dépendent du modèle utilisé pour analyser les données (Meeker *et al.*, 2010a). Le groupe de travail ne peut conclure sur la base des données chez l'Homme.

Chez l'animal, les données sur la métamorphose des amphibiens en réponse à la T3 montrent un effet potentiel du BPA comme antagoniste des hormones thyroïdiennes chez ces vertébrés. Cet effet est considéré comme avéré chez l'amphibien et pourrait être expliqué par les mécanismes décrits à partir des études *in vitro*. Si le modèle amphibien est utile en termes de criblage et d'étude des mécanismes d'action, il n'est toutefois pas adapté pour caractériser le danger chez l'Homme.

Chez les rongeurs, les données expérimentales reposent sur des approches relativement similaires (expositions développementales, voies orales en prise spontanée,...) et tendent à montrer un effet du BPA sur la fonction thyroïdienne sur une période correspondant à la maturation finale de l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien. **Les effets sur la thyroïde en lien avec une exposition néonatale au BPA sont suspectés chez les rongeurs.**

8.4.6 Effets sur le système immunitaire

En conclusion, chez l'Homme, une association positive avec les anticorps anti cytomégalovirus a été observée, mais la portée et la causalité de cette réaction restent incertaines. La seule étude disponible traitant des effets du BPA sur le système immunitaire ne permet donc pas de conclure.

Chez l'animal, l'induction des lymphocytes T accompagnée de la surproduction des cytokines est considérée comme un effet avéré. Le déplacement de la réponse immunitaire observée est plutôt en faveur des Th2.

A ce stade l'extrapolation de ces observations chez l'Homme n'est pas connue.

8.4.7 Effets sur l'intestin

Chez l'Homme, aucune étude n'a été identifiée.

Chez l'animal adulte, un effet pro-inflammatoire et une diminution de la perméabilité intestinale sont observés chez des femelles issues de mères exposées au BPA. L'effet du BPA sur l'inflammation et perméabilité intestinale est suspecté (une seule étude) chez l'animal.

Chez l'animal adulte ayant subi un traitement aigu au BPA, les effets pro nociceptifs et anti-inflammatoires du BPA sont du même type que ceux produits par l'œstradiol et passeraient par une action sur les récepteurs aux estrogènes. En revanche, chez des animaux issus de mères traitées, un effet pro-inflammatoire est observé dans la descendance femelle et passerait par un défaut de maturation du système immunitaire. L'effet du BPA sur l'inflammation et la perméabilité intestinale est suspecté (une seule étude) chez l'animal.

8.4.8 Effet sur la prostate

Chez l'homme, aucune étude épidémiologique destinée à mettre en évidence une éventuelle association entre l'exposition au BPA et une pathologie prostatique n'a été publiée à ce jour.

Chez l'animal, les études de Tyl *et al.* conduites sur plusieurs générations chez la souris et le rat, ne montrent pas d'effet sur le poids de la prostate (Tyl *et al.*, 2002; Tyl *et al.*, 2008). En revanche, d'autres études telles que Chitra *et al.*, Herath *et al.* montrent une augmentation du poids relatif de la prostate ventrale chez le rat après une exposition uniquement à l'âge adulte (Chitra *et al.*, 2003; Herath *et al.*, 2004) ou une augmentation du poids de la prostate après une exposition prénatale chez la souris (Nagel *et al.*, 1997). Les effets sur le poids de la prostate sont controversés. Lorsqu'un examen histologique était réalisé, cette augmentation de poids a été associée à une hyperplasie.

L'exposition néonatale au BPA (rongeurs), dans des conditions induites, a mis en évidence l'apparition de lésions de type PIN, mais pas l'apparition d'adénocarcinome de la prostate. Les effets observés dans ces conditions expérimentales sont suspectés. Au regard de tous ces résultats, les experts considèrent que les effets sur la prostate chez l'animal sont controversés.

8.4.9 Effets sur le sein

L'essentiel de la littérature sur l'association entre BPA et cancer du sein a moins de 10 ans et est évolutive, avec de nombreuses références récentes.

Chez l'Homme, les limites méthodologiques de la seule étude épidémiologique identifiée ne permettent pas de tirer de conclusion sur le lien entre exposition au BPA et cancer du sein.

Chez l'animal, bien que les études présentent une certaine hétérogénéité, la convergence de certains effets observés a conduit le groupe de travail à conclure comme suit :

- une accélération de la maturation architecturale de la glande mammaire à l'âge adulte en lien avec une exposition prénatale ou périnatale au BPA est un effet « avéré chez l'animal »;
 - le développement de lésions hyperplasiques intracanalaires en lien avec une exposition périnatale ou prénatale au BPA est un effet « avéré chez l'animal » ;
 - le développement de lésions de type néoplasique (CIS ; carcinomes intracanalaires) après une exposition périnatale au BPA est un effet suspecté ;
 - une augmentation de la susceptibilité des glandes mammaires à développer ultérieurement des tumeurs mammaires (lors de co-expositions avec un agent carcinogène) en lien avec une exposition prénatale ou périnatale au BPA est un effet suspecté.
- L'effet du BPA sur le risque de survenue d'un cancer du sein est retenu pour l'évaluation des risques.

8.4.10 Apport des études écotoxicologiques

Au-delà des mécanismes d'action, les études écotoxicologiques indiquent que des effets très importants notamment concernant la reproduction et le développement, peuvent affecter les espèces sauvages et que ces effets se manifestent à des concentrations susceptibles d'être rencontrées dans l'environnement.

Les études écotoxicologiques permettent de montrer que :

- Le bisphénol A est susceptible d'induire des modifications physiologiques importantes via son activité œstrogénique. La présence et l'implication de l'œstradiol dans un grand nombre de groupes zoologiques depuis les cnidaires permettent de penser qu'un nombre très important d'espèces puisse être perturbé via ce mécanisme bien que la spécificité, la distribution et la sensibilité des récepteurs hormonaux puissent varier dans une très large mesure selon le groupe considéré.

Les rapports concernant le développement laissent penser que l'activité œstrogénique n'est pas la seule voie d'interaction avec la physiologie des organismes exercée par le BPA. L'axe thyroïdien en particulier serait sensible à ce composé et les actions, selon les groupes zoologiques et/ou les doses, pourraient être agonistes ou antagonistes.

- Au-delà des mécanismes d'action, les études écotoxicologiques indiquent que des effets très importants notamment concernant la reproduction et le développement, peuvent

affecter les espèces sauvages et que ces effets se manifestent à des concentrations susceptibles d'être rencontrées dans l'environnement.

8.5 Effets retenus pour l'évaluation des risques

Le groupe de travail considère qu'en l'absence de données chez l'Homme, les effets observés chez l'animal sont jugés transposables à l'Homme excepté lorsqu'il a été démontré que ces effets observés chez l'animal sont spécifiques à cette espèce.

A l'issue de cette analyse, les experts retiennent en première intention, les effets jugés « avérés » (aucun effet avéré identifié chez l'Homme à ce jour) et suspectés chez l'Homme pour la réalisation de l'évaluation des risques. Néanmoins, ils se réservent la possibilité, suivant la pertinence et la plausibilité des effets, d'examiner dans un second temps, les effets jugés « suspectés » ou « controversés » pour conduire l'ERS. De plus, les experts prendront en considération les nouvelles données toxicologiques ou humaines disponibles, lorsque celles-ci sont susceptibles de modifier le classement réalisé.

Le groupe de travail prendra donc en considération pour l'évaluation des risques les effets jugés :

- **« avérés chez l'animal » :**

- L'augmentation de la survenue de kystes ovariens lors d'exposition pré et post-natales,
- Les modifications hyperplasiques de l'endomètre lors d'exposition pré et post-natales,
- L'avancement de l'âge à la puberté lors d'exposition pré et post-natales précoces,
- L'altération de la production spermatique lors d'exposition à l'âge adulte,
- Les modifications histologiques sur la neurogénèse lors d'exposition pré ou périnatale,
- Les effets sur la lipogenèse suite à une exposition prénatale, périnatale ou à l'âge adulte,
- Les effets sur la glande mammaire : accélération de la maturation architecturale de la glande mammaire à l'âge adulte et développement de lésions hyperplasiques intracanalaires en lien avec une exposition pré ou périnatale au BPA.

- **« suspectés chez l'Homme » :**

- Les effets sur la maturation ovocytaire chez la femme dans un contexte de procréation médicalement assistée,
- Les effets sur les pathologies cardiovasculaires (maladies coronariennes) et le diabète.

9 Recommandations de recherche

Des premières recommandations de recherche ont été proposées par le groupe de travail. Celles-ci pourront être complétées à l'avenir à l'issue des travaux d'expertise.

Compte tenu de l'importance de la période d'exposition dans l'impact attendu des perturbateurs endocriniens et de l'apparition tardive de plusieurs de ces effets, il conviendrait d'examiner l'opportunité de réaliser une étude combinée de toxicité sur le développement et de cancérogénèse, en appliquant par exemple, moyennant des modifications appropriées, les principes et procédures décrits dans la LD OCDE 414 et la LD 451. La voie d'administration à privilégier devrait être la voie orale, en raison de la prédominance de cette voie d'exposition chez l'Homme et devrait couvrir la période allant de la conception chez les parents à l'âge adulte chez les descendants pour refléter la chronicité de l'exposition au BPA.

Améliorer les connaissances sur les expositions au BPA et développer les matrices de type emploi/exposition dans les études épidémiologiques.

La notion de DJT n'est pas adaptée pour ce type de composé. Une notion de seuil serait plus adaptée.

10 Perspectives

A l'issue de cette analyse, le groupe de travail sera amené :

- A investiguer de manière plus approfondie les études susceptibles de mettre en évidence des relations dose-effet non-monotones ;
- A évaluer la sévérité, la réversibilité des effets critiques retenus pour l'évaluation des risques sanitaires ;
- A identifier les effets à retenir pour l'évaluation des risques. Pour ce faire, les experts du groupe de travail souhaitent coter les effets afin d'intégrer l'ensemble des données humaines et animales. Une grille de cotation a été proposée. Celle-ci n'est pas complètement stabilisée et sera revue par le groupe de travail lors des travaux futurs.
- A conduire une analyse complémentaire des données de toxicocinétique afin de pouvoir évaluer les similitudes ou différences notables (qualitatives ou quantitatives) entre les espèces animales et l'Homme et de pouvoir déterminer la biodisponibilité du BPA chez l'Homme ;
- A déterminer des bioéquivalences de dose à partir de données toxicocinétiques robustes afin de pouvoir utiliser les résultats des études par voie sous-cutanée dans le cadre d'une évaluation des risques sanitaires ;
- A proposer le développement d'un outil (modèle PBPK) permettant de déterminer la dose active au niveau de l'organe cible chez l'animal pouvant être ensuite transposée à l'Homme. Cet outil permettrait également d'intégrer les données de biomonitoring disponibles et à venir ;
- A identifier ou à construire une ou des Valeur(s) Toxicologique(s) de Référence (VTR) si appropriée ;

A l'issue de cette expertise, la faisabilité et la pertinence de conduire une évaluation des risques sanitaires (ERS) sera étudiée prenant en compte l'ensemble des voies d'exposition et usages, les populations les plus sensibles ainsi que les fenêtres d'exposition correspondantes.

De plus, l'Anses identifiera les substituts possibles et recensera les données disponibles sur la toxicité de ces substituts, sans pour autant aller jusqu'à l'évaluation des risques liés à l'utilisation de ces substituts.

Enfin, des auditions sur les perturbateurs endocriniens en général sont en cours. Une série de questions ont été soumises à des experts reconnus au niveau international et/ou aux parties prenantes. La prise en compte de ces auditions sera réalisée dans un second temps et dans la mesure où elles permettront de documenter la méthode d'évaluation des perturbateurs endocriniens ou de faire émerger de nouvelles préoccupations en relation avec ce type de composé.

11 Bibliographie

Fin de la bibliographie : 25 janvier 2011

Adele HB, Jefferson WN, Newbold RR, Patisaul HB (2009) Neonatal Bisphenol-A Exposure Alters Rat Reproductive Development and Ovarian Morphology Without Impairing Activation of Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. *Biology of Reproduction* **81**, 690-699.

Adele HB, Todd KL, Mickens JA, Patisaul HB (2011) The impact of neonatal bisphenol-A exposure on sexually dimorphic hypothalamic nuclei in the female rat. *Neurotoxicology (Amsterdam)* **32**, 38-49.

Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) (2010a) Annexe de l'avis de l'Afssa du 29 janvier 2010 relatif à l'analyse critique des résultats d'une étude de toxicité sur le développement du système nerveux ainsi que d'autres données publiées récemment sur les effets toxiques du bisphénol A. Afssa, (Afssa, Maisons-Alfort)

Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) (2010b) Avis du 29 janvier 2010 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'analyse critique des résultats d'une étude de toxicité sur le développement du système nerveux ainsi que d'autres données publiées récemment sur les effets toxiques du bisphénol A. Afssa, (Afssa, Maisons-Alfort)

Agence nationale de sécurité sanitaire (Anses) (2011) Rapport d'étude : Usages du Bisphénol A. Anses, (Anses, Maisons-Alfort)

Alexander HC, Dill DC, Smith LA, Guiney PA, Dorn PB (1998) Bisphenol A : acute aquatic toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry* **7**, 19-26.

Allred DC, Clark GM, Molina R, Tandon AK, Schnitt SJ, Gilchrist KW, Osborne CK, Tormey DC, McGuire WL (1992) Overexpression of HER-2/neu and its relationship with other prognostic factors change during the progression of in situ to invasive breast cancer. *Human Pathology* **23**, 974-979.

Alonso-Magdalena P, Vieira E, Soriano S, Menes L, Burks D, Quesada I, Nadal A (2010) Bisphenol A exposure during pregnancy disrupts glucose homeostasis in mothers and adult male offspring. *Environmental Health Perspectives* **118**, 1243-1250.

Ankley G, Mihaich E, Stahl R, Tillitt D, Colborn T, McMaster S, Miller R, Bantle J, Campbell P, Denslow N, Dickerson R, Folmar L, Fry M, Giesy J, Gray LE, Guiney P, Hutchinson T, Kennedy S, Kramer V, LeBlanc G, Mayes M, Nimrod A, Patino R, Peterson R, Purdy R, Ringer R, Thomas P, Touart L, Van Der Kraak G, Zacharewski T (1998) Overview of a workshop on screening methods for detecting potential (anti-) estrogenic/androgenic chemicals in wildlife. *Environmental Toxicology and Chemistry* **17**, 68-87.

Antoine M, Teilhac MF, Poulet B, Cros J (2010) De la cellule mammaire normale à la cellule cancéreuse. *Médecine Nucléaire* **34**, 14-22.

Asahi J, Kamo H, Baba R, Doi Y, Yamashita A, Murakami D, Hanada A, Hirano T (2010) Bisphenol A induces endoplasmic reticulum stress-associated apoptosis in mouse non-parenchymal hepatocytes. *Life Sciences* **87**, 431-438.

Asano S, Tune JD, Dick GM (2010) Bisphenol A activates Maxi-K ($K_{Ca1.1}$) channels in coronary smooth muscle. *British Journal of Pharmacology* **160**, 160-170.

Aschberger K, Castello P, Hoeskstra E, Karakitsios S, Munn S, Pakalin S, Sarigiannis D (2010) Bisphenol A and baby bottles: challenges & perspectives. JRC scientific and technical reports. (Publications Office of the European Union, Luxembourg)

Ashby J, Tinwell H, Haseman J (1999) Lack of effects for low dose levels of bisphenol A and diethylstilbestrol on the prostate gland of CF1 mice exposed in utero. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **30**, 156-166.

Aubele MM, Cummings MC, Mattis AE, Zitzelsberger HF, Walch AK, Kremer M, Hofler H, Werner M (2000) Accumulation of chromosomal imbalances from intraductal proliferative lesions to adjacent in situ and invasive ductal breast cancer. *Diagnostic Molecular Pathology* **9**, 14-19.

Bai Y, Chang F, Zhou R, Jin PP, Matsumoto H, Sokabe M, Chen L (2011) Increase of anteroventral periventricular kisspeptin neurons and generation of E2-induced LH-surge system in male rats exposed perinatally to environmental dose of bisphenol-A. *Endocrinology* **152**, 1562-1571.

Bayer A (1999) Fish, Juvenile growth test (*Oncorhynchus mykiss*) of Bisphenol-A. Bayer, No. 707 A/98FF (Bayer, Leverkusen, Germany)

Bayer SA, Altman J, Russo RJ, Zhang X (1993) Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology (Amsterdam)* **14**, 83-144.

Belfroid A, van VM, van der HB, Vethaak D (2002) Occurrence of bisphenol A in surface water and uptake in fish: evaluation of field measurements. *Chemosphere* **49**, 97-103.

Benachour N, Aris A (2009) Toxic effects of low doses of Bisphenol-A on human placental cells. *Toxicology and Applied Pharmacology* **241**, 322-328.

Berger RG, Hancock T, deCatanzaro D (2007) Influence of oral and subcutaneous bisphenol-A on intrauterine implantation of fertilized ova in inseminated female mice. *Reproductive Toxicology* **23**, 138-144.

Berger RG, Foster WG, deCatanzaro D (2010) Bisphenol-A exposure during the period of blastocyst implantation alters uterine morphology and perturbs measures of estrogen and progesterone receptor expression in mice. *Reproductive Toxicology* **30**, 393-400.

Berkowitz G (2006) Limitations of a case-control study on bisphenol A (BPA) serum levels and recurrent miscarriage. *Human Reproduction* **21**, 565-566.

Betancourt AM, Eltoum IA, Desmond RA, Russo J, Lamartiniere CA (2010a) In utero exposure to bisphenol A shifts the window of susceptibility for mammary carcinogenesis in the rat. *Environmental Health Perspectives* **118**, 1614-1619.

Betancourt AM, Mobley JA, Russo J, Lamartiniere CA (2010b) Proteomic analysis in mammary glands of rat offspring exposed in utero to bisphenol A. *Journal of Proteomics* **73**, 1241-1253.

Bishop-Bailey D, Hla T, Warner TD (2000) Bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) is a PPARgamma agonist in an ECV304 cell line. *British Journal of Pharmacology* **131**, 651-654.

Bjerregaard LB, Lindholst C, Korsgaard B, Bjerregaard P (2008) Sex hormone concentrations and gonad histology in brown trout (*Salmo trutta*) exposed to 17beta-estradiol and bisphenol A. *Ecotoxicology* **17**, 252-263.

Bjerregaard P, Andersen SB, Pedersen KL, Pedersen SN, Korsgaard B (2007) Orally administered bisphenol a in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): estrogenicity, metabolism, and retention. *Environmental Toxicology and Chemistry* **26**, 1910-1915.

- Bolli A, Bulzomi P, Galluzzo P, Acconcia F, Marino M (2010) Bisphenol A impairs estradiol-induced protective effects against DLD-1 colon cancer cell growth. *IUBMB Life* **62**, 684-687.
- Bolognesi C, Perrone E, Roggieri P, Pampanin DM, Sciutto A (2006) Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions. *Aquatic Toxicology* **78 Suppl 1**, S93-S98.
- Bonaccorsi L, Nosi D, Quercioli F, Formigli L, Zecchi S, Maggi M, Forti G, Baldi E (2008) Prostate cancer: a model of integration of genomic and non-genomic effects of the androgen receptor in cell lines model. *Steroids* **73**, 1030-1037.
- Bouskine A, Nebout M, Brucker-Davis F, Benahmed M, Fenichel P (2009) Low doses of bisphenol A promote human seminoma cell proliferation by activating PKA and PKG via a membrane G-protein-coupled estrogen receptor. *Environmental Health Perspectives* **117**, 1053-1058.
- Bowmer T, Borst B (1999) Environmental risk assessment of endocrine active substances a reality? International symposium on environmental endocrine disruptors. pp. 85-88. (Environment Agency, Government of Japan, Kobe)
- Bowmer, T. et Gimeno, S. The effects of Bisphenol-A on the development of the male carp reproductive tract when exposed during sexual differentiation - implications for test design and risk assessment. Rapport non publié de TNO. 2001.
- Braniste V, Leveque M, Buisson-Brenac C, Bueno L, Fioramonti J, Houdeau E (2009) Oestradiol decreases colonic permeability through oestrogen receptor beta-mediated up-regulation of occludin and junctional adhesion molecule-A in epithelial cells. *Journal of Physiology* **587**, 3317-3328.
- Braniste V, Jouault A, Gaultier E, Polizzi A, Buisson-Brenac C, Leveque M, Martin PG, Theodorou V, Fioramonti J, Houdeau E (2010) Impact of oral bisphenol A at reference doses on intestinal barrier function and sex differences after perinatal exposure in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**, 448-453.
- Braun JM, Yolton K, Dietrich KN, Hornung R, Ye X, Calafat AM, Lanphear BP (2009) Prenatal bisphenol A exposure and early childhood behavior. *Environmental Health Perspectives* **117**, 1945-1952.
- Bredhult C, Sahlin L, Olovsson MDO (2009) Gene expression analysis of human endometrial endothelial cells exposed to Bisphenol A. *Reproductive Toxicology* **28**, 18-25.
- Burstein HJ, Polyak K, Wong JS, Lester SC, Kaelin CM (2004) Ductal carcinoma in situ of the breast. *New England Journal of Medicine* **350**, 1430-1441.
- Cabaton NJ, Wadia PR, Rubin BS, Zalko D, Schaeberle CM, Askenase MH, Gadbois JL, Tharp AP, Whitt GS, Sonnenschein C, Soto AM (2010) Perinatal Exposure to Environmentally Relevant Levels of Bisphenol-A Decreases Fertility and Fecundity in CD-1 Mice. *Environmental Health Perspectives* **119**, 547-552.
- Cagen SZ, Waechter JM, Jr., Dimond SS, Breslin WJ, Butala JH, Jekat FW, Joiner RL, Shiotsuka RN, Veenstra GE, Harris LR (1999a) Normal reproductive organ development in CF-1 mice following prenatal exposure to bisphenol A. *Toxicological Sciences* **50**, 36-44.
- Cagen SZ, Waechter JM, Jr., Dimond SS, Breslin WJ, Butala JH, Jekat FW, Joiner RL, Shiotsuka RN, Veenstra GE, Harris LR (1999b) Normal reproductive organ development in Wistar rats exposed to bisphenol A in the drinking water. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **30**, 130-139.

Cantonwine D, Meeker JD, Hu H, Sanchez BN, Lamadrid-Figueroa H, Mercado-Garcia A, Fortenberry GZ, Calafat AM, Tellez-Rojo MM (2010) Bisphenol a exposure in Mexico City and risk of prematurity: a pilot nested case control study. *Environmental Health* **9**, 62.

Cao J, Guo LH, Wan B, Wei Y (2011) In vitro fluorescence displacement investigation of thyroxine transport disruption by bisphenol A. *Journal of Environmental Sciences (China)* **23**, 315-321.

Cardiff RD, Anver MR, Gusterson BA, Hennighausen L, Jensen RA, Merino MJ, Rehm S, Russo J, Tavassoli FA, Wakefield LM, Ward JM, Green JE (2000) The mammary pathology of genetically engineered mice: the consensus report and recommendations from the Annapolis meeting. *Oncogene* **19**, 968-988.

Cha BS, Koh SB, Park JH, Eom A, Lee KM, Choi HS (2008) Influence of occupational exposure to bisphenol A on the sex hormones of male epoxy resin painters. *Molecular and Cellular Toxicology* **4**, 230-234.

Chitra KC, Latchoumycandane C, Mathur PP (2003) Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology* **185**, 119-127.

Clayton EM, Todd M, Dowd JB, Aiello AE (2011) The impact of bisphenol A and triclosan on immune parameters in the U.S. population, NHANES 2003-2006. *Environmental Health Perspectives* **119**, 390-396.

Cobellis L, Colacurci N, Trabucco E, Carpentiero C, Grumetto LD (2009) Measurement of bisphenol A and bisphenol B levels in human blood sera from endometriotic women. *Biomedical Chromatography* **23**, 1186-1190.

Colborn T, vom Saal FS, Soto AM (1993) Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives* **101**, 378-384.

Colerangle JB, Roy D (1997) Profound effects of the weak environmental estrogen-like chemical bisphenol A on the growth of the mammary gland of Noble rats. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **60**, 153-160.

Collet SH, Picard-Hagen N, Viguie C, Lacroix MZ, Toutain PL, Gayrard V (2010) Estrogenicity of Bisphenol A: A Concentration-Effect Relationship on Luteinizing Hormone Secretion in a Sensitive Model of Prepubertal Lamb. *Toxicological Sciences* **117**, 54-62.

Commission européenne (CE) DG Environnement (2002) Endocrine Disrupters: study on gathering information on 435 Substances with insufficient data. Final report. RPS BKH Consulting Engineers, No. B4-3040/2001/325850/MAR/C2 (RPS BKH Consulting Engineers, Delft)

Commission européenne (CE) Joint Research Centre (2003) European Union Risk Assessment Report. 4,4'-Isopropylidenediphenol (Bisphenol-A). Office for Official Publications of the European Communities, No. EUR 20843 EN (Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg)

Commission européenne (CE) Joint Research Centre (2010a) European Union Risk Assessment Report - Environment Addendum of April 2008 - 4,4'-ISOPROPYLIDENEDIPHENOL (Bisphenol-A) - Part 1 Environment. Publications Office of the European Union, JRC Scientific and Technical Reports (EUR collection) No. EUR 24588 EN (Publications Office of the European Union, Luxembourg)

Commission européenne (CE) Joint Research Centre (2010b) European Union Risk Assessment Report - Human Health of April 2008 - 4,4'-ISOPROPYLIDENEDIPHENOL (Bisphenol-A) - Part 2 Human Health. Publications Office of the European Union, JRC Scientific and Technical Reports (EUR collection) No. EUR 24589 EN (Publications Office of the European Union, Luxembourg)

- Cox KH, Gatewood JD, Howeth C, Rissman EF (2010) Gestational exposure to bisphenol A and cross-fostering affect behaviors in juvenile mice. *Hormones and Behavior* **58**, 754-761.
- De Mascarel I, MacGrogan G, Mathoulin-Pelissier S, Vincent-Salomon A, Soubeyran I, Picot V, Coindre JM, Mauriac L (2007) Epithelial atypia in biopsies performed for microcalcifications. Practical considerations about 2,833 serially sectioned surgical biopsies with a long follow-up. *Virchows Archiv* **451**, 1-10.
- Della Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F (2006) Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Hormones and Behavior* **50**, 301-307.
- DHI Water & Environment (DHI) (2007) Study on enhancing the Endocrine Disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals. DHI, No. ENV.D.4/ETU/2005/0028r (DHI, Horsholm)
- Doerge DR, Twaddle NC, Woodling KA, Fisher JW (2010a) Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult rhesus monkeys. *Toxicology and Applied Pharmacology* **248**, 1-11.
- Doerge DR, Vanlandingham M, Twaddle NC, Delclos KB (2010b) Lactational transfer of bisphenol A in Sprague-Dawley rats. *Toxicology Letters* **199**, 372-376.
- Doherty L, Bromer J, Zhou Y, Aldad T, Taylor H (2010) In Utero Exposure to Diethylstilbestrol (DES) or Bisphenol-A (BPA) Increases EZH2 Expression in the Mammary Gland: An Epigenetic Mechanism Linking Endocrine Disruptors to Breast Cancer. *Hormones and Cancer* **1**, 146-155.
- Drastichova J, Svobodová Z, Groenland M, Dobsíková R, Zlabek V, Weissová D, Sotkowská M (2005) Effect of exposure to bisphenol A on the sex differentiation in zebrafish (*Danio rerio*). *Acta Veterinaria Brno* **74**, 287-291.
- Duft M, Schulte-Oehlmann U, Weltje L, Tillmann M, Oehlmann J (2003) Stimulated embryo production as a parameter of estrogenic exposure via sediments in the freshwater mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. *Aquatic Toxicology* **64**, 437-449.
- Dupont WD, Page DL (1985) Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *New England Journal of Medicine* **312**, 146-151.
- Durando M, Kass L, Piva J, Sonnenschein C, Soto AM, Luque EH, Munoz-de-Toro M (2007) Prenatal bisphenol A exposure induces preneoplastic lesions in the mammary gland in Wistar rats. *Environmental Health Perspectives* **115**, 80-86.
- Dussault JH, Labrie F (1975) Development of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the neonatal rat. *Endocrinology* **97**, 1321-1324.
- Endocrine Disruptor Methods Validation Subcommittee (EDMVS) (2003) White Paper on Species/Strain/Stock in Endocrine Disruptor Assays. U.S. EPA, (U.S. EPA, Washington, DC)
- Ernster VL, Ballard-Barbash R, Barlow WE, Zheng Y, Weaver DL, Cutter G, Yankaskas BC, Rosenberg R, Carney PA, Kerlikowske K, Taplin SH, Urban N, Geller BM (2002) Detection of ductal carcinoma in situ in women undergoing screening mammography. *Journal of the National Cancer Institute* **94**, 1546-1554.
- European Food Safety Authority (EFSA). Toxicokinetics of Bisphenol A - Scientific Opinion of the Panel on Food additives, Flavourings, Processing aids and Materials in Contact with Food, question number EFSA-Q-2008-382, adopted on 9 July 2008. EFSA Journal . 2008.
- European Food Safety Authority (EFSA). Scientific Opinion on Bisphenol A: evaluation of a study investigating its neurodevelopmental toxicity, review of recent scientific literature on its toxicity and advice on

the Danish risk assessment of Bisphenol A, question number EFSA-Q-2009-00864, EFSA-Q-2010-01023, EFSA-Q-2010-00709, adopted on 23 September 2010. *EFSA Journal* . 2010.

Evans NP, North T, Dye S, Sweeney T (2004) Differential effects of the endocrine-disrupting compounds bisphenol-A and octylphenol on gonadotropin secretion, in prepubertal ewe lambs. *Domestic Animal Endocrinology* **26**, 61-73.

Fernandez M, Bianchi M, Lux-Lantos V, Libertun C (2009) Neonatal Exposure to Bisphenol A Alters Reproductive Parameters and Gonadotropin Releasing Hormone Signaling in Female Rats. *Environmental Health Perspectives* **117**, 757-762.

Fernandez M, Bourguignon N, Lux-Lantos V, Libertun C (2010) Neonatal Exposure to Bisphenol A and Reproductive and Endocrine Alterations Resembling the Polycystic Ovarian Syndrome in Adult Rats. *Environmental Health Perspectives* **118**, 1217-1222.

Fini JB, Le Mevel S, Turque N, Palmier K, Zalko D, Cravedi JP, Demeneix BA (2007) An in vivo multiwell-based fluorescent screen for monitoring vertebrate thyroid hormone disruption. *Environmental Science & Technology* **41**, 5908-5914.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Organisation mondiale de la santé (OMS) (2010) Joint FAO/WHO Expert Meeting to Review Toxicological and Health Aspects of Bisphenol A: Summary Report. OMS, (OMS, Genève)

Forbes VE, Aufderheide J, Warbritton R, van der HN, Caspers N (2007) Does bisphenol A induce superfeminization in *Marisa cornuarietis*? Part II: toxicity test results and requirements for statistical power analyses. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **66**, 319-325.

Fujimoto VY, Kim D, vom Saal FS, Lamb JD, Taylor JA, Bloom MS (2011) Serum unconjugated bisphenol A concentrations in women may adversely influence oocyte quality during in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* **95**, 1816-1819.

Funabashi T, Kawaguchi M, Furuta M, Fukushima A, Kimura F (2004) Exposure to bisphenol A during gestation and lactation causes loss of sex difference in corticotropin-releasing hormone-immunoreactive neurons in the bed nucleus of the stria terminalis of rats. *Psychoneuroendocrinology* **29**, 475-485.

Gad SC (2007) The mouse. In 'Animal models in toxicology'. (Ed. SC Gad) pp. 19-146. (CRC: Sound Parkway, NW)

Galloway T, Cipelli R, Guralnik J, Ferrucci L, Bandinelli S, Corsi AM, Money C, McCormack P, Melzer D (2010) Daily Bisphenol A Excretion and Associations with Sex Hormone Concentrations: Results from the InCHIANTI Adult Population Study. *Environmental Health Perspectives* **118**, 1603-1608.

Ghisari M, Bonefeld-Jorgensen EC (2005) Impact of environmental chemicals on the thyroid hormone function in pituitary rat GH3 cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* **244**, 31-41.

Ghisari M, Bonefeld-Jorgensen EC (2009) Effects of plasticizers and their mixtures on estrogen receptor and thyroid hormone functions. *Toxicology Letters* **189**, 67-77.

Gibert Y, Sassi-Messai S, Fini JB, Bernard L, Zalko D, Cravedi JP, Balaguer P, Andersson-Lendahl M, Demeneix B, Laudet V (2011) Bisphenol A induces otolith malformations during vertebrate embryogenesis. *BMC Developmental Biology* **11**, 4.

Ginsberg G, Rice DC (2009) Does rapid metabolism ensure negligible risk from bisphenol A? *Environmental Health Perspectives* **117**, 1639-1643.

Goto M, Takano-Ishikawa Y, Ono H, Yoshida M, Yamaki K, Shinmoto H (2007) Orally administered bisphenol A disturbed antigen specific immunoresponses in the naive condition. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **71**, 2136-2143.

Goto Y, Kitamura S, Kashiwagi K, Oofusa K, Tooi O, Yoshizato K, Sato J, Ohta S, Kashiwaga A (2006) Suppression of amphibian metamorphosis by bisphenol A and related chemical substances. *Journal of Health Science* **52**, 160-168.

Gould MN (1995) Rodent models for the study of etiology, prevention and treatment of breast cancer. *Seminars in Cancer Biology* **6**, 147-152.

Guo H, Liu T, Uemura Y, Jiao S, Wang D, Lin Z, Narita Y, Suzuki M, Hirose N, Ichihara Y, Ishihara O, Kikuchi H, Sakamoto Y, Senju S, Zhang Q, Ling F (2010) Bisphenol A in combination with TNF-alpha selectively induces Th2 cell-promoting dendritic cells in vitro with an estrogen-like activity. *Cellular & Molecular Immunology* **7**, 227-234.

Gupta C (2000) Reproductive malformation of the male offspring following maternal exposure to estrogenic chemicals. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **224**, 61-68.

Hajszan T, Leranth C (2010) Bisphenol A interferes with synaptic remodeling. *Frontiers in Neuroendocrinology* **31**, 519-530.

Hanaoka T, Kawamura N, Hara K, Tsugane S (2002) Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. *Occupational and Environmental Medicine* **59**, 625-628.

Hanioka N, Naito T, Narimatsu S (2008) Human UDP-glucuronosyltransferase isoforms involved in bisphenol A glucuronidation. *Chemosphere* **74**, 33-36.

Hanioka N, Oka H, Nagaoka K, Ikushiro S, Narimatsu S (2011) Effect of UDP-glucuronosyltransferase 2B15 polymorphism on bisphenol A glucuronidation. *Archives of Toxicology A paraître*.

Hartley DE, Edwards JE, Spiller CE, Alom N, Tucci S, Seth P, Forsling ML, File SE (2003) The soya isoflavone content of rat diet can increase anxiety and stress hormone release in the male rat. *Psychopharmacology (Berl)* **167**, 46-53.

Haubrugge E, Petit F, Gage MJ (2000) Reduced sperm counts in guppies (*Poecilia reticulata*) following exposure to low levels of tributyltin and bisphenol A. *Proceedings. Biological Sciences* **267**, 2333-2337.

Heimeier RA, Das B, Buchholz DR, Shi YB (2009) The Xenoestrogen Bisphenol A Inhibits Postembryonic Vertebrate Development by Antagonizing Gene Regulation by Thyroid Hormone. *Endocrinology* **150**, 2964-2973.

Heimeier RA, Shi YB (2010) Amphibian metamorphosis as a model for studying endocrine disruption on vertebrate development: Effect of bisphenol A on thyroid hormone action. *General and Comparative Endocrinology* **168**, 181-189.

Heinonen J, Honkanen J, Kukkonen JV, Holopainen IJ (2002) Bisphenol A accumulation in the freshwater clam *Pisidium amnicum* at low temperatures. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **43**, 50-55.

Hengstler JG, Foth H, Gebel T, Kramer PJ, Lilienblum W, Schweinfurth H, Volkel W, Wollin KM, Gundert-Remy U (2011) Critical evaluation of key evidence on the human health hazards of exposure to bisphenol A. *Critical Reviews in Toxicology* **41**, 263-291.

- Herath CB, Jin W, Watanabe G, Arai K, Suzuki AK, Taya K (2004) Adverse effects of environmental toxicants, octylphenol and bisphenol A, on male reproductive functions in pubertal rats. *Endocrine* **25**, 163-172.
- Hiroi H, Tsutsumi O, Takeuchi T, Momoeda M, Ikezuki Y, Okamura A, Yokota H, Taketani Y (2004) Differences in serum bisphenol a concentrations in premenopausal normal women and women with endometrial hyperplasia. *Endocrine Journal* **51**, 595-600.
- Ho SM, Tang WY, Belmonte de FJ, Prins GS (2006) Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. *Cancer Research* **66**, 5624-5632.
- Holladay SD, Xiao S, Diao H, Barber J, Nagy T, Ye X, Gogal J (2010) Perinatal bisphenol a exposure in C57B6/129svj male mice: Potential altered cytokine/chemokine production in adulthood. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **7**, 2845-2852.
- Hong YC, Park EY, Park MS, Ko JA, Oh SY, Kim H, Lee KH, Leem JH, Ha EH (2009) Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population. *Toxicology Letters* **184**, 139-144.
- Honkanen JO, Holopainen IJ, Kukkonen JV (2004) Bisphenol A induces yolk-sac oedema and other adverse effects in landlocked salmon (*Salmo salar* m. sebago) yolk-sac fry. *Chemosphere* **55**, 187-196.
- Honma S, Suzuki A, Buchanan DL, Katsu Y, Watanabe H, Iguchi T (2002) Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. *Reproductive Toxicology* **16**, 117-122.
- Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Thayer KA, Vandenberg JG, vom Saal FS (1999) Environmental toxins: Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature* **401**, 763-764.
- Howdeshell KL (2002) A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system. *Environmental Health Perspectives* **110 Suppl 3**, 337-348.
- Howdeshell KL, Peterman PH, Judy BM, Taylor JA, Orazio CE, Ruhlen RL, vom Saal FS, Welshons WV (2003) Bisphenol A is released from used polycarbonate animal cages into water at room temperature. *Environmental Health Perspectives* **111**, 1180-1187.
- Howdeshell KL, Furr J, Lambright CR, Wilson VS, Ryan BC, Gray LE, Jr. (2008) Gestational and lactational exposure to ethinyl estradiol, but not bisphenol A, decreases androgen-dependent reproductive organ weights and epididymal sperm abundance in the male long evans hooded rat. *Toxicological Sciences* **102**, 371-382.
- Ikezuki Y, Tsutsumi O, Takai Y, Kamei Y, Taketani Y (2002) Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. *Human Reproduction* **17**, 2839-2841.
- Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) (2010a) Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Bisphénol A. Ineris, No. INERIS-DRC-10-109972-01125C, 66 p. (Ineris, Verneuil-en-Halatte)
- Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) (2010b) Rapport d'étude : Le Bisphénol A - mise à jour juin 2010. Ineris, No. DRC-10-109972-01125C (Ineris, Verneuil-en-Halatte)
- Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS) (2010) Fiche toxicologique FT 279 - Bisphénol A. INRS, (INRS, Paris)

- Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) (2011) Reproduction et environnement. Expertise collective. Inserm, (Inserm, Paris)
- Interagency Coordinating Committee for the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) (2003) ICCVAM evaluation of in vitro test methods for detecting potential endocrine disruptors : estrogen receptors and androgen receptor binding and transcriptional activation assays. NIH, No. 03-4503 (NIH, Research Triangle Park, NC)
- International Diabetes Federation (IDF). The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. En ligne : <http://www.idf.org/metabolic-syndrome> [Date de consultation : juillet 2011] . 2011.
- International Programme on Chemicals Safety (IPCS) (1999) Principles for the assessment of risks to human health from exposure to chemicals. Environmental health criteria 210. OMS, (OMS, Genève)
- Iordanidou A, Hadzopoulou-Cladaras M, Lazou A (2010) Non-genomic effects of thyroid hormone in adult cardiac myocytes: relevance to gene expression and cell growth. *Molecular and Cellular Biochemistry* **340**, 291-300.
- Ishihara A, Nishiyama N, Sugiyama S, Yamauchi K (2003) The effect of endocrine disrupting chemicals on thyroid hormone binding to Japanese quail transthyretin and thyroid hormone receptor. *General and Comparative Endocrinology* **134**, 36-43.
- Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T, Sasaki H, Tanaka T, Tsugane S (2007) Urinary bisphenol-A concentration in infertile Japanese women and its association with endometriosis: A cross-sectional study. *Environmental Health and Preventive Medicine* **12**, 258-264.
- Jenkins S, Raghuraman N, Eltoun I, Carpenter M, Russo J, Lamartiniere CA (2009) Oral Exposure to Bisphenol A Increases Dimethylbenzanthracene-Induced Mammary Cancer in Rats. *Environmental Health Perspectives* **117**, 910-915.
- Jensen MN, Ritskes-Hoitinga M (2007) How isoflavone levels in common rodent diets can interfere with the value of animal models and with experimental results. *Lab Animal* **41**, 1-18.
- Jiang N, Cui YG, Liu JY (2007) Effect of bisphenol a on steroid production in human granulosa cells, a study in vitro. (Eds G Zhou, Z Lu, H Takeyama, and L Huang) pp. 312-314. (Phoenix Publishing & Media Network: Nanjing)
- Jobling S, Casey D, Rogers-Gray T, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Pawlowski S, Baunbeck T, Turner AP, Tyler CR (2004) Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquatic Toxicology* **66**, 207-222.
- Jones LP, Sampson A, Kang HJ, Kim HJ, Yi YW, Kwon SY, Babus JK, Wang A, Bae I (2010) Loss of BRCA1 leads to an increased sensitivity to Bisphenol A. *Toxicology Letters* **199**, 261-268.
- Kabuto H, Amakawa M, Shishibori T (2004) Exposure to bisphenol A during embryonic/fetal life and infancy increases oxidative injury and causes underdevelopment of the brain and testis in mice. *Life Sciences* **74**, 2931-2940.
- Kaddar N, Harthe C, Dechaud H, Mappus E, Pugeat M (2008) Cutaneous penetration of bisphenol A in pig skin. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* **71**, 471-473.
- Kandaraki E, Chatzigeorgiou A, Livadas S, Palioura E, Economou F, Koutsilieris M, Palimeri S, Panidis D, amanti-Kandarakis E (2011) Endocrine disruptors and polycystic ovary syndrome (PCOS): elevated serum levels of bisphenol A in women with PCOS. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **96**, E480-E484.

- Kaneko M, Okada R, Yamamoto K, Nakamura M, Mosconi G, Polzonetti-Magni AM, Kikuyama S (2008) Bisphenol A acts differently from and independently of thyroid hormone in suppressing thyrotropin release from the bullfrog pituitary. *General and Comparative Endocrinology* **155**, 574-580.
- Kato H, Furuhashi T, Tanaka M, Katsu Y, Watanabe H, Ohta Y, Iguchi T (2006) Effects of bisphenol A given neonatally on reproductive functions of male rats. *Reproductive Toxicology* **22**, 20-29.
- Kausch U, Alberti M, Haindl S, Budczies J, Hock B (2008) Biomarkers for exposure to estrogenic compounds: gene expression analysis in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology* **23**, 15-24.
- Kidani T, Kamei S, Miyawaki J, Aizawa J, Sakayama K, Masuno H (2010) Bisphenol A downregulates Akt signaling and inhibits adiponectin production and secretion in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* **17**, 834-843.
- Kim K, Son TG, Park HR, Kim SJ, Kim HS, Kim HS, Kim TS, Jung KK, Han SY, Lee J (2009) Potencies of bisphenol A on the neuronal differentiation and hippocampal neurogenesis. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* **72**, 1343-1351.
- Kim YH, Kim CS, Park S, Han SY, Pyo MY, Yang M (2003) Gender differences in the levels of bisphenol A metabolites in urine. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **312**, 441-448.
- Kitamura S, Suzuki T, Sanoh S, Kohta R, Jinno N, Sugihara K, Yoshihara S, Fujimoto N, Watanabe H, Ohta S (2005) Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicological Sciences* **84**, 249-259.
- Kobayashi K, Miyagawa M, Wang RS, Sekiguchi S, Suda M, Honma T (2002) Effects of in utero and lactational exposure to bisphenol A on somatic growth and anogenital distance in F1 rat offspring. *Industrial Health* **40**, 375-381.
- Kobayashi K, Ohtani K, Kubota H, Miyagawa M (2010) Dietary exposure to low doses of bisphenol A: effects on reproduction and development in two generations of C57BL/6J mice. *Congenital Anomalies* **50**, 159-170.
- Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT (2002) Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environmental Science & Technology* **36**, 1202-1211.
- Koponen PS, Tuikka A, Kukkonen JV (2007) Effects of ultraviolet-B radiation and larval growth on toxicokinetics of waterborne bisphenol A in common frog (*Rana temporaria*) larvae. *Chemosphere* **66**, 1323-1328.
- Kubo K, Arai O, Ogata R, Omura M, Hori T, Aou S (2001) Exposure to bisphenol A during the fetal and suckling periods disrupts sexual differentiation of the locus coeruleus and of behavior in the rat. *Neuroscience Letters* **304**, 73-76.
- Kubo K, Arai O, Omura M, Watanabe R, Ogata R, Aou S (2003) Low dose effects of bisphenol A on sexual differentiation of the brain and behavior in rats. *Neuroscience Research* **45**, 345-356.
- Kunju LP, Cookingham C, Toy KA, Chen W, Sabel MS, Kleer CG (2011) EZH2 and ALDH-1 mark breast epithelium at risk for breast cancer development. *Modern Pathology* **24**, 786-793.
- Kurebayashi H, Harada R, Stewart RK, Numata H, Ohno Y (2002) Disposition of a low dose of bisphenol a in male and female cynomolgus monkeys. *Toxicological Sciences* **68**, 32-42.

Kwak HI, Bae MO, Lee MH, Lee YS, Lee BJ, Kang KS, Chae CH, Sung HJ, Shin JS, Kim JH, Mar WC, Sheen YY, Cho MH (2001) Effects of nonylphenol, bisphenol A, and their mixture on the viviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). *Environmental Toxicology and Chemistry* **20**, 787-795.

Kwintkiewicz J, Nishi Y, Yanase T, Giudice LC (2010) Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma mediates bisphenol A inhibition of FSH-stimulated IGF-1, aromatase, and estradiol in human granulosa cells. *Environmental Health Perspectives* **118**, 400-406.

Kwon S, Stedman DB, Elswick BA, Cattley RC, Welsch F (2000) Pubertal development and reproductive functions of Crl:CD BR Sprague-Dawley rats exposed to bisphenol A during prenatal and postnatal development. *Toxicological Sciences* **55**, 399-406.

Lahnsteiner F, Berger B, Kletzl M, Weismann T (2005) Effect of bisphenol A on maturation and quality of semen and eggs in the brown trout, *Salmo trutta f. fario*. *Aquatic Toxicology* **75**, 213-224.

Lang IA, Galloway TS, Scarlett A, Henley WE, Depledge M, Wallace RB, Melzer D (2008) Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA* **300**, 1303-1310.

Larsen BK, Bjornstad A, Sundt RC, Taban IC, Pampanin DM, Andersen OK (2006) Comparison of protein expression in plasma from nonylphenol and bisphenol A-exposed Atlantic cod (*Gadus morhua*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) by use of SELDI-TOF. *Aquatic Toxicology* **78 Suppl 1**, S25-S33.

Latendresse JR, Bucci TJ, Olson G, Mellick P, Weis CC, Thorn B, Newbold RR, Delclos KB (2009) Genistein and ethinyl estradiol dietary exposure in multigenerational and chronic studies induce similar proliferative lesions in mammary gland of male Sprague-Dawley rats. *Reproductive Toxicology* **28**, 342-353.

Laurila M, van der KT, Bubendorf L, di LS, Pihl CG, Ciatto S, Hugosson J, Maattanen L, Roobol MJ, Kujala PM (2010) Detection rates of cancer, high grade PIN and atypical lesions suspicious for cancer in the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *European Journal of Cancer* **46**, 3068-3072.

Lephart ED, Porter JP, Lund TD, Bu L, Setchell KD, Ramoz G, Crowley WR (2004) Dietary isoflavones alter regulatory behaviors, metabolic hormones and neuroendocrine function in Long-Evans male rats. *Nutrition & Metabolism* **1**, 16.

Li DK, Zhou Z, Qing D, He Y, Wu T, Miao M, Wang J, Weng X, Ferber JR, Herrinton LJ, Zhu Q, Gao E, Checkoway H, Yuan W (2010a) Occupational exposure to bisphenol-A (BPA) and the risk of self-reported male sexual dysfunction. *Human Reproduction* **25**, 519-527.

Li DK, Zhou Z, Miao M, He Y, Qing D, Wu T, Wang J, Weng X, Ferber J, Herrinton LJ, Zhu Q, Gao E, Yuan W (2010b) Relationship between urine bisphenol-A level and declining male sexual function. *Journal of Andrology* **31**, 500-506.

Li DK, Zhou Z, Miao M, He Y, Wang J, Ferber J, Herrinton LJ, Gao E, Yuan W (2011) Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertility and Sterility* **95**, 625-630.

Li MW, Mruk DD, Lee WM, Cheng CY (2009) Disruption of the blood-testis barrier integrity by bisphenol A in vitro: is this a suitable model for studying blood-testis barrier dynamics? *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* **41**, 2302-2314.

Lindholm C, Pedersen KL, Pedersen SN (2000) Estrogenic response of bisphenol A in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* **48**, 87-94.

- Lindholm C, Pedersen SN, Bjerregaard P (2001) Uptake, metabolism and excretion of bisphenol A in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* **55**, 75-84.
- Longnecker MP (2009) Human data on bisphenol a and neurodevelopment. *Environmental Health Perspectives* **117**, A531-A532.
- Lopez-Garcia MA, Geyer FC, Lacroix-Triki M, Marchio C, Reis-Filho JS (2010) Breast cancer precursors revisited: molecular features and progression pathways. *Histopathology* **57**, 171-192.
- MacGrogan G, Arnould L, de M, I, Vincent-Salomon A, Penault-Llorca F, Lacroix-Triki M, Bibeau F, Baranzelli MC, Fridman V, Antoine M, Becette V, Brouste V, Jacquemier J, Mathoulin-Pelissier S (2008) Impact of immunohistochemical markers, CK5/6 and E-cadherin on diagnostic agreement in non-invasive proliferative breast lesions. *Histopathology* **52**, 689-697.
- MacLusky NJ, Hajszan T, Leranath C (2005) The environmental estrogen bisphenol a inhibits estradiol-induced hippocampal synaptogenesis. *Environmental Health Perspectives* **113**, 675-679.
- Maffini MV, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM (2006) Endocrine disruptors and reproductive health: the case of bisphenol-A. *Molecular and Cellular Endocrinology* **254-255**, 179-186.
- Mahoney MM, Padmanabhan V (2010) Developmental programming: impact of fetal exposure to endocrine-disrupting chemicals on gonadotropin-releasing hormone and estrogen receptor mRNA in sheep hypothalamus. *Toxicology and Applied Pharmacology* **247**, 98-104.
- Maini A, Archer C, Wang CY, Haas GP (1997) Comparative pathology of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *In Vivo* **11**, 293-299.
- Marchesini GR, Meimaridou A, Haasnoot W, Meulenberg E, Albertus F, Mizuguchi M, Takeuchi M, Irth H, Murk AJ (2008) Biosensor discovery of thyroxine transport disrupting chemicals. *Toxicology and Applied Pharmacology* **232**, 150-160.
- Markey CM, Wadia PR, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM (2005) Long-term effects of fetal exposure to low doses of the xenoestrogen bisphenol-A in the female mouse genital tract. *Biology of Reproduction* **72**, 1344-1351.
- Marquet F, Payan JP, Beydon D, Wathier L, Grandclaude MC, Ferrari E (2011) In vivo and ex vivo percutaneous absorption of [¹⁴C]-bisphenol A in rats: a possible extrapolation to human absorption? *Archives of Toxicology A paraître*.
- Martini M, Miceli D, Gotti S, Viglietti-Panzica C, Fissore E, Palanza P, Panzica G (2010) Effects of perinatal administration of Bisphenol A on the neuronal nitric oxide synthase expressing system in the hypothalamus and limbic system of CD1 mice. *Journal of Neuroendocrinology* **22**, 1004-1012.
- Matsuda S, Saika S, Amano K, Shimizu E, Sajiki J (2010) Changes in brain monoamine levels in neonatal rats exposed to bisphenol A at low doses. *Chemosphere* **78**, 894-906.
- Mazur CS, Kenneke JF, Hess-Wilson JK, Lipscomb JC (2010) Differences between human and rat intestinal and hepatic bisphenol A glucuronidation and the influence of alamethicin on in vitro kinetic measurements. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* **38**, 2232-2238.
- McCormick JM, Paiva MS, Haggblom MM, Cooper KR, White LA (2010) Embryonic exposure to tetrabromobisphenol A and its metabolites, bisphenol A and tetrabromobisphenol A dimethyl ether disrupts normal zebrafish (*Danio rerio*) development and matrix metalloproteinase expression. *Aquatic Toxicology* **100**, 255-262.

- Meeker JD, Calafat AM, Hauser R (2010a) Urinary Bisphenol A Concentrations in Relation to Serum Thyroid and Reproductive Hormone Levels in Men from an Infertility Clinic. *Environmental Science & Technology* **44**, 1458-1463.
- Meeker JD, Ehrlich S, Toth TL, Wright DL, Calafat AM, Trisini AT, Ye X, Hauser R (2010b) Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic. *Reproductive Toxicology* **30**, 532-539.
- Meerts IA, van Zanden JJ, Luijckx EA, van Leeuwen-Bol I, Marsh G, Jakobsson E, Bergman A, Brouwer A (2000) Potent competitive interactions of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin in vitro. *Toxicological Sciences* **56**, 95-104.
- Melzer D, Rice NE, Lewis C, Henley WE, Galloway TS (2010) Association of urinary bisphenol a concentration with heart disease: evidence from NHANES 2003/06. *PLoS One* **5**, e8673.
- Mendiola J, Jorgensen N, Andersson AM, Calafat AM, Ye X, Redmon JB, Drobnis EZ, Wang C, Sparks A, Thurston SW, Liu F, Swan SH (2010) Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men? *Environmental Health Perspectives* **118**, 1286-1291.
- Mendoza-Rodríguez CA, García-Guzmán M, Baranda-Avila N, Morimoto S, Perrot-Applanat M, Cerbón M (2011) Administration of bisphenol A to dams during perinatal period modifies molecular and morphological reproductive parameters of the offspring. *Reproductive Toxicology* **31**, 177-183.
- Metcalfe CD, Metcalfe TL, Kiparissis Y, Koenig BG, Khan C, Hughes RJ, Croley TR, March RE, Potter T (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**, 297-308.
- Miao S, Gao Z, Kou Z, Xu G, Su C, Liu N (2008) Influence of bisphenol a on developing rat estrogen receptors and some cytokines in rats: a two-generational study. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* **71**, 1000-1008.
- Midoro-Horiuti T, Tiwari R, Watson CS, Goldblum RM (2010) Maternal bisphenol a exposure promotes the development of experimental asthma in mouse pups. *Environmental Health Perspectives* **118**, 273-277.
- Mielke H, Gundert-Remy U (2009) Bisphenol A levels in blood depend on age and exposure. *Toxicology Letters* **190**, 32-40.
- Miller GJ, Torkko KC (2001) Natural history of prostate cancer—Epidemiologic considerations. *Epidemiologic Reviews* **23**, 14-18.
- Miodovnik A, Engel SM, Zhu C, Ye X, Soorya LV, Silva MJ, Calafat AM, Wolff MS (2011) Endocrine disruptors and childhood social impairment. *Neurotoxicology (Amsterdam)* **32**, 261-267.
- Miyawaki J, Sakayama K, Kato H, Yamamoto H, Masuno H (2007) Perinatal and postnatal exposure to bisphenol a increases adipose tissue mass and serum cholesterol level in mice. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* **14**, 245-252.
- Moens LN, van d, V, Van RP, Del-Favero J, De Coen WM (2006) Expression profiling of endocrine-disrupting compounds using a customized *Cyprinus carpio* cDNA microarray. *Toxicological Sciences* **93**, 298-310.
- Moens LN, van d, V, Van RP, Del-Favero J, De Coen WM (2007) Gene expression analysis of estrogenic compounds in the liver of common carp (*Cyprinus carpio*) using a custom cDNA microarray. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* **21**, 299-311.

- Mok-Lin E, Ehrlich S, Williams PL, Petrozza J, Wright DL, Calafat AM, Ye X, Hauser R (2010) Urinary bisphenol A concentrations and ovarian response among women undergoing IVF. *International Journal of Andrology* **33**, 385-393.
- Moral R, Wang R, Russo IH, Lamartiniere CA, Pereira J, Russo J (2008) Effect of prenatal exposure to the endocrine disruptor bisphenol A on mammary gland morphology and gene expression signature. *Journal of Endocrinology* **196**, 101-112.
- Morck TJ, Sorda G, Bechi N, Rasmussen BS, Nielsen JB, Ietta F, Rytting E, Mathiesen L, Paulesu L, Knudsen LE (2010) Placental transport and in vitro effects of Bisphenol A. *Reproductive Toxicology* **30**, 131-137.
- Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, Hataya Y, Shimatsu A, Kuzuya H, Nakao K (2002) Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **87**, 5185-5190.
- Mueller SO (2004) Xenoestrogens: mechanisms of action and detection methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **378**, 582-587.
- Munoz del Toro M, Markey CM, Wadia PR, Luque EH, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM (2005) Perinatal exposure to bisphenol-A alters peripubertal mammary gland development in mice. *Endocrinology* **146**, 4138-4147.
- Murray TJ, Maffini MV, Ucci AA, Sonnenschein C, Soto AM (2007) Induction of mammary gland ductal hyperplasias and carcinoma in situ following fetal bisphenol A exposure. *Reproductive Toxicology* **23**, 383-390.
- Naciff JM, Khambatta ZS, Reichling TD, Carr GJ, Tiesman JP, Singleton DW, Khan SA, Daston GPD (2010) The genomic response of Ishikawa cells to bisphenol A exposure is dose- and time-dependent. *Toxicology* **270**, 137-149.
- Nagel SC, vom Saal FS, Thayer KA, Dhar MG, Boechler M, Welshons WV (1997) Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. *Environmental Health Perspectives* **105**, 70-76.
- Nakagami A, Negishi T, Kawasaki K, Imai N, Nishida Y, Ihara T, Kuroda Y, Yoshikawa Y, Koyama T (2009) Alterations in male infant behaviors towards its mother by prenatal exposure to bisphenol A in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) during early suckling period. *Psychoneuroendocrinology* **34**, 1189-1197.
- Nakamura K, Itoh K, Yoshimoto K, Sugimoto T, Fushiki S (2010) Prenatal and lactational exposure to low-doses of bisphenol A alters brain monoamine concentration in adult mice. *Neuroscience Letters* **484**, 66-70.
- National Toxicology Program (NTP) (1982) Carcinogenesis Bioassay of Bisphenol A (CAS No. 80-05-7) in F344 Rats and B6C3F1 Mice (Feed Study). NIH, No. 215:1-116. (NIH, Research Triangle Park, NC)
- National Toxicology Program (NTP) (2001) National Toxicology Program's Report of the Endocrine Disruptors Low-Dose Peer Review. NIEHS, (NIEHS, Research Triangle Park, NC)
- National Toxicology Program (NTP) (2008) NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Bisphenol A. NIH, No. 08-5994 (NIH, Research Triangle Park, NC)
- National Toxicology Program (NTP). NTP Historical Controls for NTP-2000 Diet [base de données en ligne]. En ligne : <http://ntp.niehs.nih.gov/?objectid=92E705C7-F1F6-975E-72D23026B1645EB9> [Date de consultation : mars 2011]. 2010.

Navarro VM, Sanchez-Garrido MA, Castellano JM, Roa J, Garcia-Galiano D, Pineda R, Aguilar E, Pinilla L, Tena-Sempere M (2009) Persistent impairment of hypothalamic KiSS-1 system after exposures to estrogenic compounds at critical periods of brain sex differentiation. *Endocrinology* **150**, 2359-2367.

Newbold RR, Jefferson WN, Padilla-Banks E (2007) Long-term adverse effects of neonatal exposure to bisphenol A on the murine female reproductive tract. *Reproductive Toxicology* **24**, 253-258.

Newbold RR, Jefferson WN, Padilla-Banks E (2009) Prenatal Exposure to Bisphenol A at Environmentally Relevant Doses Adversely Affects the Murine Female Reproductive Tract Later in Life. *Environmental Health Perspectives* **117**, 879-885.

Nikaido Y, Yoshizawa K, Danbara N, Tsujita-Kyutoku M, Yuri T, Uehara N, Tsubura A (2004) Effects of maternal xenoestrogen exposure on development of the reproductive tract and mammary gland in female CD-1 mouse offspring. *Reproductive Toxicology* **18**, 803-811.

Nikaido Y, Danbara N, Tsujita-Kyutoku M, Yuri T, Uehara N, Tsubura A (2005) Effects of prepubertal exposure to xenoestrogen on development of estrogen target organs in female CD-1 mice. *In Vivo* **19**, 487-494.

Nishikawa M, Iwano H, Yanagisawa R, Koike N, Inoue H, Yokota H (2010) Placental transfer of conjugated bisphenol A and subsequent reactivation in the rat fetus. *Environmental Health Perspectives* **118**, 1196-1203.

Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Tillmann M, Markert B (2000) Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xenoestrogens. *Ecotoxicology* **9**, 383-397.

Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Bachmann J, Oetken M, Lutz I, Kloas W, Ternes TA (2006) Bisphenol A induces superfeminization in the ramshorn snail *Marisa cornuarietis* (Gastropoda: Prosobranchia) at environmentally relevant concentrations. *Environmental Health Perspectives* **114 Suppl 1**, 127-133.

Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Agency (OEHHA) Reproductive and Cancer Hazard Assessment Branch (2009) Evidence on the developmental and reproductive toxicity of Bisphenol A. OEHHA, (OEHHA, Sacramento)

Ohshima Y, Yamada A, Tokuriki S, Yasutomi M, Omata N, Mayumi M (2007) Transmaternal exposure to bisphenol a modulates the development of oral tolerance. *Pediatric Research* **62**, 60-64.

Okada A, Kai O (2008) Effects of estradiol-17beta and bisphenol A administered chronically to mice throughout pregnancy and lactation on the male pups reproductive system. *Asian Journal of Andrology* **10**, 271-276.

Okuda K, Takiguchi M, Yoshihara S (2010) In vivo estrogenic potential of 4-methyl-2,4-bis(4-hydroxyphenyl)pent-1-ene, an active metabolite of bisphenol A, in uterus of ovariectomized rat. *Toxicology Letters* **197**, 7-11.

Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) (2004) Essai n° 428 : Absorption cutanée : méthode in vitro, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4 : Effets sur la santé. Éditions OCDE, (Éditions OCDE, Paris, Berlin)

Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) (2009) Essai n° 455 : Essai d'activation transcriptionnelle faisant intervenir le récepteur d'œstrogène alpha humain transfecté de façon stable pour la détection de l'activité œstrogénique agoniste des substances testées, Lignes directrices de

l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4 : Effets sur la santé. Éditions OCDE, (Éditions OCDE, Paris, Berlin)

Organisation mondiale de la santé (OMS) (1999) WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge University Press, (Cambridge University Press, New York)

Owens W, Ashby J, Odum J, Onyon L (2003) The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: dietary phytoestrogen analyses. *Environmental Health Perspectives* **111**, 1559-1567.

Padmanabhan V, Siefert K, Ransom S, Johnson T, Pinkerton J, Anderson L, Tao L, Kannan K (2008) Maternal bisphenol-A levels at delivery: a looming problem? *Journal of Perinatology* **28**, 258-263.

Page DL, Dupont WD, Rogers LW, Jensen RA, Schuyler PA (1995) Continued local recurrence of carcinoma 15-25 years after a diagnosis of low grade ductal carcinoma in situ of the breast treated only by biopsy. *Cancer* **76**, 1197-1200.

Palanza P, Gioiosa L, vom Saal FS, Parmigiani S (2008) Effects of developmental exposure to bisphenol A on brain and behavior in mice. *Environmental Research* **108**, 150-157.

Palanza PL, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS (2002) Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environmental Health Perspectives* **110 Suppl 3**, 415-422.

Patisaul HB, Fortino AE, Polston EK (2006) Neonatal genistein or bisphenol-A exposure alters sexual differentiation of the AVPV. *Neurotoxicology and Teratology* **28**, 111-118.

Patisaul HB, Fortino AE, Polston EK (2007) Differential disruption of nuclear volume and neuronal phenotype in the preoptic area by neonatal exposure to genistein and bisphenol-A. *Neurotoxicology (Amsterdam)* **28**, 1-12.

Patisaul HB, Todd KL, Mickens JA, Adewale HBD (2009) Impact of neonatal exposure to the ER alpha agonist PPT, bisphenol-A or phytoestrogens on hypothalamic kisspeptin fiber density in male and female rats. *Neurotoxicology (Amsterdam)* **30**, 350-357.

Poimenova A, Markaki E, Rahiotis C, Kitraki E (2010) Corticosterone-regulated actions in the rat brain are affected by perinatal exposure to low dose of bisphenol A. *Neuroscience* **167**, 741-749.

Pottenger LH, Domoradzki JY, Markham DA, Hansen SC, Cagen SZ, Waechter JM, Jr. (2000) The relative bioavailability and metabolism of bisphenol A in rats is dependent upon the route of administration. *Toxicological Sciences* **54**, 3-18.

Prins GS, Ye SH, Birch L, Ho SM, Kannan K (2011) Serum bisphenol A pharmacokinetics and prostate neoplastic responses following oral and subcutaneous exposures in neonatal Sprague-Dawley rats. *Reproductive Toxicology* **31**, 1-9.

Putz O, Schwartz CB, Kim S, LeBlanc GA, Cooper RL, Prins GS (2001) Neonatal low- and high-dose exposure to estradiol benzoate in the male rat: I. Effects on the prostate gland. *Biology of Reproduction* **65**, 1496-1505.

Ramakrishnan S, Wayne NL (2008) Impact of bisphenol-A on early embryonic development and reproductive maturation. *Reproductive Toxicology* **25**, 177-183.

Rankouhi TR, Sanderson JT, van H, I, van LC, Vethaak AD, van den BM (2004) Effects of natural and synthetic estrogens and various environmental contaminants on vitellogenesis in fish primary hepatocytes: comparison of bream (*Abramis brama*) and carp (*Cyprinus carpio*). *Toxicological Sciences* **81**, 90-102.

Réseau international des autorités de sécurité sanitaire des aliments (INFOSAN) (2009) Bisphenol A (BPA) – État actuel des connaissances et actions de l'OMS et de la FAO à l'avenir. INFOSAN, No. INFOSAN 5/2009 (INFOSAN, Genève)

Richter CA, Birnbaum LS, Farabolini F, Newbold RR, Rubin BS, Talsness CE, Vandenberg JG, Walser-Kuntz DR, vom Saal FS (2007) In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reproductive Toxicology* **24**, 199-224.

Robboy SJ, Bean SM (2010) Pathogenesis of endometriosis. *Reproductive Biomedicine Online* **21**, 4-5.

Rubin BS, Murray MK, Damassa DA, King JC, Soto AM (2001) Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. *Environmental Health Perspectives* **109**, 675-680.

Rubin BS, Lenkowski JR, Schaeberle CM, Vandenberg LN, Ronsheim PM, Soto AM (2006) Evidence of altered brain sexual differentiation in mice exposed perinatally to low, environmentally relevant levels of bisphenol A. *Endocrinology* **147**, 3681-3691.

Ruhlen RL, Howdeshell KL, Mao J, Taylor JA, Bronson FH, Newbold RR, Welshons WV, vom Saal FS (2008) Low phytoestrogen levels in feed increase fetal serum estradiol resulting in the "fetal estrogenization syndrome" and obesity in CD-1 mice. *Environmental Health Perspectives* **116**, 322-328.

Russo IH, Russo J (1996) Mammary gland neoplasia in long-term rodent studies. *Environmental Health Perspectives* **104**, 938-967.

Ryan BC, Hotchkiss AK, Crofton KM, Gray LE (2010a) In Utero and Lactational Exposure to Bisphenol A, In Contrast to Ethinyl Estradiol, Does Not Alter Sexually Dimorphic Behavior, Puberty, Fertility, and Anatomy of Female LE Rats. *Toxicological Sciences* **114**, 133-148.

Ryan KK, Haller AM, Sorrell JE, Woods SC, Jandacek RJ, Seeley RJ (2010b) Perinatal exposure to bisphenol-a and the development of metabolic syndrome in CD-1 mice. *Endocrinology* **151**, 2603-2612.

Sakaue M, Ohsako S, Ishimura R, Kurosawa S, Kurohmaru M, Hayashi Y, Aoki Y, Yonemoto J, Tohyama C (2001) Bisphenol-A affects spermatogenesis in the adult rat even at low dose. *Journal of Occupational Health* **43**, 185-190.

Salian S, Doshi T, Vanage G (2009a) Impairment in protein expression profile of testicular steroid receptor coregulators in male rat offspring perinatally exposed to Bisphenol A. *Life Sciences* **85**, 11-18.

Salian S, Doshi T, Vanage G (2009b) Neonatal exposure of male rats to Bisphenol A impairs fertility and expression of sertoli cell junctional proteins in the testis. *Toxicology* **265**, 56-67.

Salian S, Doshi T, Vanage G (2009c) Perinatal exposure of rats to Bisphenol A affects the fertility of male offspring. *Life Sciences* **85**, 742-752.

Santé Canada (2008) Évaluation préalable finale pour le défi concernant le Phénol, 4,4-(1-méthyléthylidène)bis (Bisphenol-A). Santé Canada, (Santé Canada, Ottawa)

Sargis RM, Johnson DN, Choudhury RA, Brady MJ (2010) Environmental Endocrine Disruptors Promote Adipogenesis in the 3T3-L1 Cell Line through Glucocorticoid Receptor Activation. *Obesity* **18**, 1283-1288.

- Savabieasfahani M, Kannan K, Astapova O, Evans NP, Padmanabhan V (2006) Developmental programming: Differential effects of prenatal exposure to bisphenol-A or methoxychlor on reproductive function. *Endocrinology* **147**, 5956-5966.
- Schaefer WR, Fischer L, Deppert WR, Hanjalic-Beck A, Seebacher L, Weimer M, Zahradnik HP (2010) In vitro-Ishikawa cell test for assessing tissue-specific chemical effects on human endometrium. *Reproductive Toxicology* **30**, 89-93.
- Schlede E, Aberer W, Fuchs T, Gerner I, Lessmann H, Maurer T, Rossbacher R, Stropp G, Wagner E, Kayser D (2003) Chemical substances and contact allergy—244 substances ranked according to allergenic potency. *Toxicology* **193**, 219-259.
- Schulte-Oehlmann U, Tillmann M, Casey D, Duft M, Markert B, Oehlmann J (2001) Xeno-estrogenic effects of bisphenol A in prosobranchs (Mollusca: Gastropoda: Prosobranchia). *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung* **13**, 319-333.
- Seiwa C, Nakahara J, Komiyama T, Katsu Y, Iguchi T, Asou H (2004) Bisphenol A exerts thyroid-hormone-like effects on mouse oligodendrocyte precursor cells. *Neuroendocrinology* **80**, 21-30.
- Signorile PG, Spugnini EP, Mita L, Mellone P, D'Avino A, Bianco M, Diano N, Caputo L, Rea F, Viceconte R, Portaccio M, Viggiano E, Citro G, Pierantoni R, Sica V, Vincenzi B, Mita DG, Baldi F, Baldi A (2010) Prenatal exposure of mice to bisphenol A elicits an endometriosis-like phenotype in female offspring. *General and Comparative Endocrinology* **168**, 318-325.
- Singh M, McGinley JN, Thompson HJ (2000) A comparison of the histopathology of premalignant and malignant mammary gland lesions induced in sexually immature rats with those occurring in the human. *Laboratory Investigation* **80**, 221-231.
- Skakkebaek NE, Rajpert-De ME, Main KM (2001) Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Human Reproduction* **16**, 972-978.
- Sohoni P, Tyler CR, Hurd K, Caunter J, Hetheridge M, Williams T, Woods C, Evans M, Toy R, Gargas M, Sumpter JP (2001) Reproductive effects of long-term exposure to Bisphenol A in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Science & Technology* **35**, 2917-2925.
- Somm E, Schwitzgebel VM, Toulotte A, Cederroth CR, Combesure C, Nef S, Aubert ML, Huppi PS (2009) Perinatal exposure to bisphenol a alters early adipogenesis in the rat. *Environmental Health Perspectives* **117**, 1549-1555.
- Soto AM, Lin TM, Justicia H, Silvia RM, Sonnenschein C (1992) An "in culture" bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics (E- SCREEN). *Advances in Modern Environmental Toxicology* **21**, 295-309.
- Spearow JL, Doemeny P, Sera R, Leffler R, Barkley M (1999) Genetic variation in susceptibility to endocrine disruption by estrogen in mice. *Science* **285**, 1259-1261.
- Stump DG, Beck MJ, Radovsky A, Garman RH, Freshwater LL, Sheets LP, Marty MS, Waechter JM, Jr., Dimond SS, Van Miller JP, Shiotsuka RN, Beyer D, Chappelle AH, Hentges SG (2010) Developmental neurotoxicity study of dietary bisphenol A in Sprague-Dawley rats. *Toxicological Sciences* **115**, 167-182.
- Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Sonta S, Makino T, Suzumori K (2005) Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage. *Human Reproduction* **20**, 2325-2329.

- Sun H, Shen OX, Wang XR, Zhou L, Zhen SQ, Chen XD (2009) Anti-thyroid hormone activity of bisphenol A, tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A in an improved reporter gene assay. *Toxicology in Vitro* **23**, 950-954.
- Tachibana T, Wakimoto Y, Nakamuta N, Phichitraslip T, Wakitani S, Kusakabe K, Hondo E, Kiso Y (2007) Effects of bisphenol A (BPA) on placentation and survival of the neonates in mice. *Journal of Reproduction and Development* **53**, 509-514.
- Takagi H, Shibutani M, Masutomi N, Uneyama C, Takahashi N, Mitsumori K, Hirose M (2004) Lack of maternal dietary exposure effects of bisphenol A and nonylphenol during the critical period for brain sexual differentiation on the reproductive/endocrine systems in later life. *Archives of Toxicology* **78**, 97-105.
- Takeuchi T, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Takai Y, Taketani Y (2004) Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction. *Endocrine Journal* **51**, 165-169.
- Taylor JA, Welshons WV, vom Saal FS (2008) No effect of route of exposure (oral; subcutaneous injection) on plasma bisphenol A throughout 24h after administration in neonatal female mice. *Reproductive Toxicology* **25**, 169-176.
- Taylor JA, vom Saal FS, Welshons WV, Drury B, Rottinghaus G, Hunt PA, Toutain PL, Laffont CM, Vandevort CA (2011) Similarity of bisphenol A pharmacokinetics in rhesus monkeys and mice: relevance for human exposure. *Environmental Health Perspectives* **119**, 422-430.
- Thigpen JE, Haseman JK, Saunders HE, Setchell KD, Grant MG, Forsythe DB (2003) Dietary phytoestrogens accelerate the time of vaginal opening in immature CD-1 mice. *Comparative Medicine* **53**, 607-615.
- Thigpen JE, Setchell KD, Padilla-Banks E, Haseman JK, Saunders HE, Caviness GF, Kissling GE, Grant MG, Forsythe DB (2007) Variations in phytoestrogen content between different mill dates of the same diet produces significant differences in the time of vaginal opening in CD-1 mice and F344 rats but not in CD Sprague-Dawley rats. *Environmental Health Perspectives* **115**, 1717-1726.
- Thomas P, Doughty K (2004) Disruption of rapid, nongenomic steroid actions by environmental chemicals: interference with progestin stimulation of sperm motility in Atlantic croaker. *Environmental Science & Technology* **38**, 6328-6332.
- Thomas P, Sweatman J (2008) Interference by atrazine and bisphenol-A with progestin binding to the ovarian progestin membrane receptor and induction of oocyte maturation in Atlantic croaker. *Marine Environmental Research* **66**, 1-2.
- Thompson HJ, McGinley JN, Wolfe P, Singh M, Steele VE, Kelloff GJ (1998) Temporal sequence of mammary intraductal proliferations, ductal carcinomas in situ and adenocarcinomas induced by 1-methyl-1-nitrosourea in rats. *Carcinogenesis* **19**, 2181-2185.
- Tian X, Takamoto M, Sugane K (2003) Bisphenol A promotes IL-4 production by Th2 cells. *International Archives of Allergy and Immunology* **132**, 240-247.
- Tian YH, Baek JH, Lee SY, Jang CG (2010) Prenatal and postnatal exposure to bisphenol a induces anxiolytic behaviors and cognitive deficits in mice. *Synapse* **64**, 432-439.
- Timms BG, Howdeshell KL, Barton L, Bradley S, Richter CA, vom Saal FS (2005) Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**, 7014-7019.

Tinwell H, Haseman J, Lefevre PA, Wallis N, Ashby J (2002) Normal sexual development of two strains of rat exposed in utero to low doses of bisphenol A. *Toxicological Sciences* **68**, 339-348.

Tominaga T, Negishi T, Hirooka H, Miyachi A, Inoue A, Hayasaka I, Yoshikawa Y (2006) Toxicokinetics of bisphenol A in rats, monkeys and chimpanzees by the LC-MS/MS method. *Toxicology* **226**, 208-217.

Tsukioka T, Terasawa J, Sato S, Hatayama Y, Makino T, Nakazawa H (2004) Development of analytical method for determining trace amounts of BPA in urine samples and estimation of exposure to BPA. *Journal of Environmental Chemistry* **17**, 57-63.

Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Thomas BF, Keimowitz AR, Brine DR, Veselica MM, Fail PA, Chang TY, Seely JC, Joiner RL, Butala JH, Dimond SS, Cagen SZ, Shiotsuka RN, Stropp GD, Waechter JM (2002) Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. *Toxicological Sciences* **68**, 121-146.

Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Sloan CS, Castillo NP, Veselica MM, Seely JC, Dimond SS, Van Miller JP, Shiotsuka RN, Beyer D, Hentges SG, Waechter JM (2008) Two-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol a in CD-1 (Swiss) mice. *Toxicological Sciences* **104**, 362-384.

US Food and Drug Administration (FDA) (2008) Draft assessment of Bisphenol A for use in food contact applications. FDA, (FDA, Silver Spring)

Vandenberg LN, Maffini MV, Wadia PR, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM (2007a) Exposure to environmentally relevant doses of the xenoestrogen bisphenol-A alters development of the fetal mouse mammary gland. *Endocrinology* **148**, 116-127.

Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV (2007b) Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology* **24**, 139-177.

Vandenberg LN, Maffini MV, Schaeberle CM, Ucci AA, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM (2008) Perinatal exposure to the xenoestrogen bisphenol-A induces mammary intraductal hyperplasias in adult CD-1 mice. *Reproductive Toxicology* **26**, 210-219.

Volkel W, Colnot T, Csanady GA, Filser JG, Dekant W (2002) Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chemical Research in Toxicology* **15**, 1281-1287.

Volkel W, Bittner N, Dekant W (2005) Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* **33**, 1748-1757.

vom Saal FS, Timms BG, Montano MM, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Dhar MD, Ganjam VK, Parmigiani S, Welshons WV (1997) Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**, 2056-2061.

vom Saal FS, Cooke PS, Buchanan DL, Palanza P, Thayer KA, Nagel SC, Parmigiani S, Welshons WV (1998) A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. *Toxicology and Industrial Health* **14**, 239-260.

vom Saal FS, Hughes C (2005) An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environmental Health Perspectives* **113**, 926-933.

vom Saal FS, Richter CA, Ruhlen RR, Nagel SC, Timms BG, Welshons WV (2005) The importance of appropriate controls, animal feed, and animal models in interpreting results from low-dose studies of bisphenol A. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology* **73**, 140-145

vom Saal FS, Welshons WV (2006) Large effects from small exposures. II. The importance of positive controls in low-dose research on bisphenol A. *Environmental Research* **100**, 50-76.

vom Saal FS, Akingbemi BT, Belcher SM, Birnbaum LS, Crain DA, Eriksen M, Farabollini F, Guillette LJ, Jr., Hauser R, Heindel JJ, Ho SM, Hunt PA, Iguchi T, Jobling S, Kanno J, Keri RA, Knudsen KE, Laufer H, LeBlanc GA, Marcus M, McLachlan JA, Myers JP, Nadal A, Newbold RR, Olea N, Prins GS, Richter CA, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM, Talsness CE, Vandenberg JG, Vandenberg LN, Walser-Kuntz DR, Watson CS, Welshons WV, Wetherill Y, Zoeller RT (2007) Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. *Reproductive Toxicology* **24**, 131-138.

Wadia PR, Vandenberg LN, Schaeberle CM, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM (2007) Perinatal bisphenol A exposure increases estrogen sensitivity of the mammary gland in diverse mouse strains. *Environmental Health Perspectives* **115**, 592-598.

Watanabe S, Wang RS, Miyagawa M, Kobayashi K, Suda M, Sekiguchi S, Honma T (2003) Imbalance of testosterone level in male offspring of rats perinatally exposed to bisphenol A. *Industrial Health* **41**, 338-341.

Wellings S, Alpers C (1994) Quantitative analysis of preneoplastic lesions of the breast: a basis for computer modelling. *Surgical Pathology* **5**, 371-382.

Welsh M, Saunders PT, Fisker M, Scott HM, Hutchison GR, Smith LB, Sharpe RM (2008) Identification in rats of a programming window for reproductive tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. *Journal of Clinical Investigation* **118**, 1479-1490.

Welshons WV, Nagel SC, vom Saal FS (2006) Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology* **147**, S56-S69.

William & Wilkins (2002) Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. **106**, 3143-3421.

Wolff MS, Britton JA, Boguski L, Hochman S, Maloney N, Serra N, Liu Z, Berkowitz G, Larson S, Forman J (2008a) Environmental exposures and puberty in inner-city girls. *Environmental Research* **107**, 393-400.

Wolff MS, Engel SM, Berkowitz GS, Ye X, Silva MJ, Zhu C, Wetmur J, Calafat AM (2008b) Prenatal phenol and phthalate exposures and birth outcomes. *Environmental Health Perspectives* **116**, 1092-1097.

Wolff MS, Teitelbaum SL, Pinney SM, Windham G, Liao L, Biro F, Kushi LH, Erdmann C, Hiatt RA, Rybak ME, Calafat AM (2010) Investigation of Relationships between Urinary Biomarkers of Phytoestrogens, Phthalates, and Phenols and Pubertal Stages in Girls. *Environmental Health Perspectives* **118**.

Wu JH, Jiang XR, Liu GM, Liu XY, He GL, Sun ZY (2011) Oral exposure to low-dose bisphenol A aggravates testosterone-induced benign hyperplasia prostate in rats. *Toxicology and Industrial Health* **A paraître**.

Xu X, Liu Y, Sadamatsu M, Tsutsumi S, Akaike M, Ushijima H, Kato N (2007) Perinatal bisphenol A affects the behavior and SRC-1 expression of male pups but does not influence on the thyroid hormone receptors and its responsive gene. *Neuroscience Research* **58**, 149-155.

Xu XH, Ye Y, Li T, Chen L, Tian D, Luo Q, Lu M (2010a) Bisphenol-A rapidly promotes dynamic changes in hippocampal dendritic morphology through estrogen receptor-mediated pathway by concomitant phosphorylation of NMDA receptor subunit NR2B. *Toxicology and Applied Pharmacology* **249**, 188-196.

Xu XH, Wang YM, Zhang J, Luo QQ, Ye YP, Ruan Q (2010b) Perinatal exposure to bisphenol-A changes N-methyl-D-aspartate receptor expression in the hippocampus of male rat offspring. *Environmental Toxicology and Chemistry* **29**, 176-181.

Xu XH, Zhang J, Wang YM, Ye YP, Luo QQ (2010c) Perinatal exposure to bisphenol-A impairs learning-memory by concomitant down-regulation of N-methyl-D-aspartate receptors of hippocampus in male offspring mice. *Hormones and Behavior* **58**, 326-333.

Yan H, Takamoto M, Sugane K (2008) Exposure to Bisphenol A prenatally or in adulthood promotes T(H)2 cytokine production associated with reduction of CD4CD25 regulatory T cells. *Environmental Health Perspectives* **116**, 514-519.

Yang M, Lee HS, Pyo MY (2008) Proteomic biomarkers for prenatal bisphenol A-exposure in mouse immune organs. *Environmental and Molecular Mutagenesis* **49**, 368-373.

Yang M, Ryu JH, Jeon R, Kang D, Yoo KY (2009) Effects of bisphenol A on breast cancer and its risk factors. *Archives of Toxicology* **83**, 281-285.

Yang X, Karuturi RK, Sun F, Aau M, Yu K, Shao R, Miller LD, Tan PB, Yu Q (2009) CDKN1C (p57) is a direct target of EZH2 and suppressed by multiple epigenetic mechanisms in breast cancer cells. *PLoS One*. **4**, e5011.

Ye X, Kuklennyik Z, Needham LL, Calafat AM (2005) Quantification of urinary conjugates of bisphenol A, 2,5-dichlorophenol, and 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone in humans by online solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **383**, 638-644.

Ye X, Wong LY, Bishop AM, Calafat AM (2011) Variability of Urinary Concentrations of Bisphenol A in Spot Samples, First-morning Voids, and 24-Hour Collections. *Environmental Health Perspectives*.

Yokota H, Iwano H, Endo M, Kobayashi T, Inoue H, Ikushiro S, Yuasa A (1999) Glucuronidation of the environmental oestrogen bisphenol A by an isoform of UDP-glucuronosyltransferase, UGT2B1, in the rat liver. *Biochemical Journal* **340**, 405-409.

Yokota H, Tsuruda Y, Maeda M, Oshima Y, Tadokoro H, Nakazono A, Honjo T, Kobayashi K (2000) Effect of bisphenol a on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry* **19**, 1925-1930.

Yoshida M, Shimomoto T, Katashima S, Watanabe G, Taya K, Maekawa A (2004) Maternal exposure to low doses of bisphenol a has no effects on development of female reproductive tract and uterine carcinogenesis in Donryu rats. *Journal of Reproduction and Development* **50**, 349-360.

Yoshino S, Yamaki K, Li X, Sai T, Yanagisawa R, Takano H, Taneda S, Hayashi H, Mori Y (2004) Prenatal exposure to bisphenol A up-regulates immune responses, including T helper 1 and T helper 2 responses, in mice. *Immunology* **112**, 489-495.

Zafar S, Ali A, Aqil M, Ahad A (2010) Transdermal drug delivery of labetalol hydrochloride: Feasibility and effect of penetration enhancers. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* **2**, 321-324.

Zalko D, Soto AM, Dolo L, Dorio C, Rathahao E, Debrauwer L, Faure R, Cravedi JP (2003) Biotransformations of bisphenol A in a mammalian model: answers and new questions raised by low-dose metabolic fate studies in pregnant CD1 mice. *Environmental Health Perspectives* **111**, 309-319.

Zalko D, Jacques C, Duplan H, Bruel S, Perdu E (2011) Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A. *Chemosphere* **82**, 424-430.

Zha J, Wang Z (2006) Acute and early life stage toxicity of industrial effluent on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Science of the Total Environment* **357**, 112-119.

Zhou J, Cai ZH, Li L, Gao YF, Hutchinson TH (2010) A proteomics based approach to assessing the toxicity of bisphenol A and diallyl phthalate to the abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*). *Chemosphere* **79**, 595-604.

Zhou J, Zhu XS, Cai ZH (2011) The impacts of bisphenol A (BPA) on abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*) embryonic development. *Chemosphere* **82**, 443-450.

Zoeller RT, Bansal R, Parris C (2005) Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology* **146**, 607-612.

ANNEXES

Annexe 1 : Lettres de saisine

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

Ministère de la santé et des sports

Le Directeur général de la santé

EA4 N° 220

Paris, le - 4 JUIN 2009

COURRIER REÇU LE

0 8 JUIN 2009

2186

Monsieur le directeur général
Agence française de sécurité sanitaire
de l'environnement et du travail
253, avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex

Objet : Substances reprotoxiques et perturbateurs endocriniens.
N/Réf : 090018 (*numéro de dossier à rappeler dans toute correspondance*)

Les données scientifiques semblent mettre en évidence dans les pays industrialisés une baisse de la fertilité chez l'homme depuis une vingtaine d'années. Ces évolutions préoccupantes sont souvent attribuées à la pollution chimique de notre environnement.

L'action de certaines substances chimiques sur la reproduction ou sur les organes de la reproduction peut être due soit à une action directe reprotoxique qui peut affecter l'adulte, le jeune enfant, l'embryon ou le fœtus lors de son développement prénatal, soit à une action hormono-mimétique (« oestrogen- ou androgen-like ») lorsque ces substances sont des perturbateurs endocriniens.

Dans ce contexte de préoccupations tant pour le public que pour les autorités sanitaires, j'ai saisi l'INSERM pour la réalisation d'une expertise collective visant notamment à répertorier sous six mois les substances reprotoxiques préoccupantes, à décrire les différents effets reprotoxiques sur le développement ou la fertilité connus et leurs mécanismes, à analyser les facteurs de risque chez l'enfant et l'adulte en identifiant en particulier les périodes de la vie les plus sensibles en termes d'exposition et à analyser les tests *in vitro* et *in vivo* actuellement mis en œuvre, au niveau réglementaire ou au stade de la recherche, pour détecter ces effets. L'AFSSET est associée à cette expertise.

Sur la base de la liste des substances reprotoxiques établie dans le cadre de cette expertise de l'INSERM, je souhaite que vous poursuiviez dans votre champ de compétence ces travaux d'expertise afin de déterminer s'il existe aujourd'hui des produits destinés au grand public contenant de telles substances, de quantifier leurs utilisations, les niveaux d'exposition qui en résultent et de procéder à une évaluation bénéfice/risque. L'AFSSA et l'AFSSAPS seront saisies de la même manière dans leur champ de compétence.

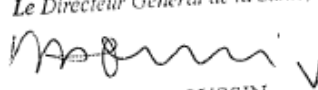
Je souhaite par ailleurs que votre agence assure la coordination générale des travaux de ces différents organismes afin de produire une évaluation globale des expositions et des risques et

de proposer, si nécessaire, le renforcement de certaines préconisations d'usage. A cet effet, vous voudrez bien en particulier, parmi ces produits :

- Identifier ceux d'entre eux contenant ces substances ou susceptibles d'être concernés ;
- Sélectionner ceux à étudier en priorité ;
- Analyser et si possible quantifier des voies d'exposition de la population générale à ces substances en précisant les sources directes et indirectes, et incluant des populations vulnérables et les personnes en milieu de travail ;
- Envisager des substitutions.

S'agissant du domaine des résidus de médicaments dans les eaux, je vous indique qu'il a déjà fait l'objet de ma part d'une demande d'expertise auprès de l'AFSSA et de l'AFSSAPS. Par ailleurs, un plan d'actions relatif aux résidus médicamenteux dans les milieux est en cours d'élaboration conjointement par la Direction Générale de la Santé et la Direction de l'Eau et de la Biodiversité du MEEDDAT. Si une saisine est nécessaire sur ce thème, elle sera élaborée en concertation entre les deux ministères en cohérence avec le plan d'action sus mentionné.

Le Directeur Général de la Santé,



Pr Didier HOUSSIN



MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE, DE
L'ÉNERGIE, DU
DÉVELOPPEMENT DURABLE
ET DE LA MER,
en charge des Technologies
vertes et des Négociations sur
le climat

Direction générale de la
prévention des risques

Paris le 18 FEV. 2010

Le Directeur général de la prévention des
risques

à

Monsieur le Directeur général de
l'Agence Française de Sécurité Sanitaire
de l'Environnement et du Travail
253 Avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort

Objet : Bisphénol A
Copie : DGS, DGAL, DGT, DGCCRF, AFSSA, INERIS

Le bisphénol A fait l'objet d'une attention particulière au niveau international en raison de la publication régulière de nouvelles études relatives aux effets sur la santé dans des revues spécialisées. La sensibilité des enfants et des femmes enceintes et le caractère perturbateur endocrinien du bisphénol A suscitent ainsi des inquiétudes au sein de la population et de la communauté scientifique.

Au vu de ces informations scientifiques complémentaires et des démarches engagées par les autorités de divers pays (Japon, Norvège, Canada), il nous semble pertinent d'approfondir la réflexion sur les risques encourus pour la santé et l'environnement.

Le bisphénol A est utilisé pour la fabrication de polycarbonates utilisés dans de nombreux plastiques, dans la fabrication de différentes résines et d'ignifugeants. De plus le bisphénol A est utilisé, entre autres, en tant qu'additif dans les retardateurs de flammes et comme révélateur dans les papiers thermiques.

Dans ce cadre, je vous demande d'engager des travaux portant sur les risques sanitaires résultant d'une exposition de l'homme au bisphénol A via l'environnement. Je vous demande ainsi de bien vouloir, en lien avec l'AFSSA :

- transmettre une synthèse des dangers présentés par le bisphénol A à partir notamment d'une revue des études publiées depuis le rapport d'évaluation des risques présenté au niveau communautaire par Le Royaume-Uni en février 2008 dans le cadre du règlement

793/93 et le dossier Annexe XV transitoire soumis au 1^{er} décembre 2008, de faire un bilan des connaissances multidisciplinaires en la matière et identifier les éventuelles lacunes; pour réaliser ce travail, vous pourrez utilement prendre l'attache du président du comité scientifique du programme de recherche sur les perturbateurs endocriniens pour identifier les scientifiques qui peuvent utilement y contribuer ;

- identifier les usages conduisant à une exposition humaine et caractériser ces situations d'exposition ;
- identifier les substituts au bisphénol A ainsi que les données disponibles sur les dangers présentés par ces substituts.

Vous pourrez également vous rapprocher de l'Ineris qui, à la demande de l'Onema, a engagé un travail sur les données de production et d'utilisation du bisphénol A, les rejets et le devenir de cette substance dans l'environnement, ainsi que les perspectives de substitution et de réduction des émissions.

En fonction des informations recueillies lors de cette première phase, vous voudrez bien analyser la faisabilité et la pertinence d'une évaluation des risques sanitaires liés aux différents modes d'exposition et à partir des données disponibles.

Il me paraît souhaitable que cette molécule fasse l'objet d'une attention particulière de votre agence lors des travaux sur les perturbateurs endocriniens engagés au niveau national avec l'Inserm.

A la lumière de ces travaux, vous formulerez si nécessaire des recommandations, notamment pour la prise en compte du bisphénol A dans le cadre du règlement (CE) n°1907/2006 dit règlement REACH. Une analyse de la procédure la plus pertinente (inscription dans le premier plan d'action communautaire pour évaluation, préparation d'un dossier de restriction, de classification et d'étiquetage harmonisés ou d'identification de substance extrêmement préoccupante en vue de son inscription à l'annexe XIV) devra notamment être conduite en tenant compte des outils de gestion prévus par d'autres réglementations sectorielles.

Enfin, je vous remercie de bien vouloir dresser un bilan des recherches en cours concernant le bisphénol A ou ses substituts et d'en tirer d'éventuelles recommandations relatives aux domaines à investiguer en priorité.

Le Directeur général de la
prévention des risques



Laurent MICHEL

Annexe 2 : Définitions des Perturbateurs Endocriniens

- EPA : reprise de la définition de Kavlock en 1996: “an exogenous agent that *interferes* with the synthesis, secretion, transport, binding, action, or elimination of natural hormones in the body which are responsible for the maintenance or homeostasis, reproduction, development and or behavior”.
- Commission Européenne : Weybridge (1996) : “An endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that *alters* function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations” ou
- « substance exogène qui entraîne des effets délétères sur un organisme vivant ou sa descendance résultant de changements dans la fonction endocrine » cf. European Workshop on the Impact of Endocrine Disruptors on Human. Health and Wildlife, Weybridge, Royaume-Uni (1996)
- La définition de l’OMS (2002) sépare deux catégories : les « **endocrine disruptors** » et les « **potential endocrine disruptors** », explicitant davantage la tension entre une définition donnant la primauté à un mécanisme d’action exclusivement pathogène, d’une part, et une définition englobant la perturbation endocrinienne dans un mécanisme d’action potentiellement pathogène, d’autre part ou, pour reprendre la terminologie de l’EPA et de Weybridge, entre d’*interférences* et d’*altérations* :
 - An *endocrine disruptor* is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations.
 - A *potential endocrine disruptor* is an exogenous substance or mixture that possesses properties that might be expected to lead to endocrine disruption in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations.
 - Ou en français « substance exogène ou mélange qui altère la (les) fonction(s) du système endocrinien et, par voie de conséquence, cause un effet nocif sur la santé chez un organisme intact, sa descendance ou des sous populations. » cf. International Programme on Chemical Safety (IPCS) (2002).
- Cette définition de l’OMS est reprise par les groupes de travail de l’OCDE qui prennent également en compte une définition de ce qu’est un « **adverse effect** » :
 - “Change in the morphology, physiology, growth, development, reproduction or life span of an organism, system or (sub)population that results in an impairment of functional capacity, an impairment of the capacity to compensate for additional stress, or an increase in susceptibility to other influences”. Remarque: pas de définition réglementaire de l’”impairment”. (Descriptions of Selected Key Generic Terms used in Chemical Hazard/Risk Assessment – OECD Series on Testing and

Assessment N°44, cité dans ENVIRONMENT DIRECTORATE JOINT MEETING OF THE CHEMICALS COMMITTEE AND THE WORKING PARTY ON CHEMICALS, PESTICIDES AND BIOTECHNOLOGY, Advisory Group on Endocrine Disrupters Testing and Assessment (EDTA) of the Test Guidelines Programme, Workshop on Endocrine Disrupters Testing and Assessment (EDTA) 22-24 September, Copenhagen, Denmark, ENV/JM/TG/EDTA/RD(2009)1)

- Endocrine Society :
 - “An endocrine-disrupting substance is a compound, either natural or synthetic, which through environmental or inappropriate developmental exposures alters the hormonal and homeostatic systems that enable the organism to communicate with and respond to its environment”, Diamanti-Kandarakis E *et al.*, Endocrine Reviews (2009) .
- L'architecture REACh distingue les perturbateurs endocriniens à l'intérieur de la classe des substances extrêmement préoccupantes. Ainsi les perturbateurs endocriniens sont rangés dans une classe différente des CMR, des PBT (Persistent, Bioaccumulative, Toxicant), ou encore des vPvB (very Persistent and very Bioaccumulative). Au sens de REACh, les perturbateurs endocriniens sont des substances soulevant une préoccupation équivalente aux trois autres classes de substances susmentionnées.

Annexe 3 : Effets sur le développement autres que des atteintes du système reproducteur mâle et femelle

Même s'il n'y a aucune preuve chez l'Homme d'un effet reprotoxique du BPA, le NTP-CERHR a conclu en 2008 que les études chez l'animal de laboratoire montrent qu'une exposition à de fortes doses de BPA pendant la gestation ou la lactation peut entraîner une réduction de la survie des fœtus chez le rat et la souris (> 500 mg/kg pc/j), du poids des petits à la naissance et de la croissance néonatale chez le rat et la souris (> 300 mg/kg pc/j) ainsi qu'un retard de la puberté chez les mâles (souris) et femelles (rats et souris) (> 50 mg/kg pc/j). Ces effets sont observés aux doses auxquelles des baisses de poids corporels sont également observés chez les mères traitées. Ces doses sont très largement supérieures aux doses d'exposition humaine.

Dans son évaluation des risques (CE, 2003; CE, 2010b), les effets sur la fertilité et les performances de reproduction ont été évalués. Cette évaluation s'est appuyée notamment sur la base des résultats des études de Tyl *et al.* (2000), Chemical Compound Safety Research Institute (2000) et du NTP (1985b). Ces études étaient jugées de bonne qualité. Il y a à la fois une étude de 2 générations et une étude 3 générations toutes deux conduites chez le rat (Chemical Compound Safety Research Institute, 2000 et Tyl *et al.*, 2000, respectivement) et une étude de reproduction continue chez la souris (NTP, 1985b).

Dans l'étude rat 2-génération, aucun effet néfaste sur la fertilité n'a été observé jusqu'à la dose maximale testée de 200 µg/kg pc/j. On peut néanmoins noter que cette dose est relativement faible.

Dans l'étude rat 3-génération, utilisant des doses de 0,001 à 500 mg/kg pc/j, une réduction statistiquement significative de la taille de la portée a été observée dans les trois générations à la dose la plus élevée (F1 : 11,5 petits vivants par portée par rapport à 14,3 pour les contrôles ; F2 : 10,8 contre 14,6 ; F3 : 10,9 contre 14,8). Cette réduction n'était pas corrélée à une augmentation du nombre de petits morts par portée. A la dose de 500 mg/kg pc/j une toxicité générale a été observée chez les adultes dans toutes les générations (réduction du gain de poids > 13% chez les deux sexes et dégénérescence des tubules rénaux chez les femelles seulement).

Dans l'étude souris, des réductions significatives du nombre de portées produites par paire F0 et de la taille des portées (petits vivants par portée) ont été observées aux doses médiane et forte (environ 600 et 1300 mg/kg pc/j). Ces diminutions de taille des portées ont été observées après chaque accouplement et ce de manière dose-reliée mais n'étaient pas liées à une augmentation des petits mort-nés. Aucun effet n'a été observé à la dose la plus faible (environ 300 mg/kg pc/j).

Des diminutions de la taille des portées ont également été observées dans d'autres expériences de "cross-over" dans lesquelles les cas où seules les femelles étaient traitées engendraient les effets les plus importants. A la forte dose, des effets de toxicité générale dans le foie et les reins des parents F0 ont été décrits mais non gradés (cf. RAR ESR pour plus de détails). Aucun effet indésirable sur la fertilité n'a été observé dans la seule portée testée par dose à la génération F1 dans cette étude.

Ces données ont servi de base à la proposition de classification et d'étiquetage du bisphénol A en tant que composé Toxique pour la reproduction catégorie 2, H 361f- Toxicité spécifique pour certains organes cibles.

Le panel d'experts réuni sous l'égide de la (FAO/OMS, 2010) a pris en compte les études publiées depuis 2008. Sur la base des études chez les rongeurs après administration de faible dose de BPA par voie orale ou sous-cutanée (inférieures à 1 mg/kg pc/j), le panel d'experts a jugé:

- suffisantes les preuves en faveur de:
 - l'absence d'effets tératogènes du BPA
 - l'absence d'effet sur la survie des nouveaux nés et le poids à la naissance
 - l'absence d'effet sur la croissance des nouveaux nés et leur survie pendant la lactation
 - l'absence d'effet sur la distance ano-génitale chez les males et femelles
 - l'absence d'effet morphologique masculinisant chez la femelle ou démasculinisant chez le mâle
- suffisantes (mais avec un certain degré d'incertitude) les preuves en faveur de :
 - l'absence de diminution du taux d'implantation, l'absence d'effet sur la fertilité ou la fécondité ;
- controversés les effets sur :
 - une modification de l'âge de la puberté
 - des modifications du poids ou de l'histologie des organes reproducteurs chez les males et femelles exposés
 - des modifications des taux hormonaux chez les males et femelles exposés ainsi que chez leur descendants
 - des modifications du poids, de l'histologie des organes reproducteurs ou des paramètres spermatiques chez les descendant males.

Les experts estiment importantes les incertitudes quant aux effets du BPA chez les rongeurs à des doses inférieures à 1 mg/kg pc/j par voie orale ou cutanée sur les cibles conventionnels en lien avec la reprotoxicité ou le développement.

Les experts soulignent le manque de données sur :

- les effets d'une exposition néonatale au BPA sur le développement de la fonction de reproduction
- les effets du BPA sur des modèles animaux non rongeurs : lapins, primates non-humains, ... qui pourraient être plus pertinents pour certains types d'effets (prostate par exemple).

Annexe 4 : Effets chroniques

D'après l'UE-RAR 2003 et 2010 (CE, 2003; CE, 2010b), seules quatre études de toxicité chronique **par inhalation** sont disponibles chez le rat : Nitschke *et al.* (1985 et 1988 ; études non publiées financées par Dow Chemical), Stasenkova *et al.* (1973 ; article en russe) et Gage (1970). Ces études chez le rat ont mis en évidence :

- des modifications réversibles de l'épithélium nasal : une coloration brunâtre autour du nez des rats à partir de 50 mg/m³ et une inflammation faible et une hyperplasie de l'épithélium à 50 et 150 mg/m³ [Nitschke *et al.*, 1985 et 1988] ;
- une incontinence périnéale à 150 mg/m³ [Nitschke *et al.*, 1985 et 1988] ;
- une diminution du gain de poids corporel [Nitschke *et al.*, 1988 ; Stasenkova *et al.*, 1973] ;
- des effets sur les reins et le foie : modification du poids absolus des reins et du foie (diminution à 150 mg/m³ chez les rates dans l'étude de Nitschke *et al.*, 1988 et augmentation dans l'étude de Stasenkova *et al.*, 1973), diminution de l'acide ascorbique dans le foie et les reins et de l'excrétion de l'acide hippurique dans l'urine [Stasenkova *et al.*, 1973].

Nitschke *et al.* (1988) ont mis en évidence un NOAEC de 10 mg/m³ sur lequel le SCOEL s'est basé pour construire sa VLEP 8h [SCOEL, 2004]. En 2008, la FDA a examiné les 2 études de Nitschke *et al.* et les a considéré robustes pour l'identification d'organes cibles potentiels mais ne les considère pas utiles pour évaluer les effets suite à une exposition par voie orale (FDA, 2008).

Par **voie orale**, l'UE-RAR 2003 et 2010 (CE, 2003; CE, 2010b) recense différents effets pour des doses très supérieures à 5 mg/kg pc/j, NOAEL ayant servi à dériver la DJT actuelle :

- une diminution du gain de poids corporel chez le rat (NTP, 1982 : 2 semaines, 90 jours, 2 ans ; Takahashi et Oishi, 2001 ; Tyl *et al.*, 1978) et la souris (NTP, 1982 et 1985b) ;
- une diminution poids corporel chez le rat (> 4000 ppm chez mâle et 8000 ppm chez femelles) (General electric, 1976) ;
- une diminution significative de gain de poids d'organes chez la souris (> 650 mg/kg pc/j) () ;
- des effets hépatiques : une diminution du poids (absolu et relatif) du foie (> 466 mg/kg) chez le rat (Takahashi et Oishi 2001), une augmentation du poids relatif du foie chez le chien (270 mg/kg) (General Electric, 1976), des modifications de la taille et de l'état de nucléation des hépatocytes chez la souris (NTP, 1982 ; Furukawa *et al.*, 1994) ;
- une diminution du poids (absolu et relatif) de la glande préputiale (> 235 mg/kg) et de la prostate (> 950 mg/kg) chez le rat (Takahashi et Oishi 2001) et une augmentation du poids relatif du cerveau, des reins (femelles), des testicules à 2500 ppm chez le rat (Tyl *et al.*, 1978), une augmentation du poids absolu et relatif des reins (> 2600 mg/kg) et des ovaires (> 1300 mg/kg) chez les souris femelles (Furukawa *et al.*, 1994) ;
- une hypertrophie du caecum chez le rat (Tyl *et al.*, 1978 ; NTP 1982, 90 jours) ;

- des modifications hématologiques chez la souris : diminution du nombre d'érythrocytes, de l'hémoglobine (mâle) et de l'hématocrite (4800 mg/kg chez les mâles et 650 mg/kg chez les femelles) (Furukawa *et al.*, 1994).

Selon l'UE-RAR (2010) (CE, 2010b), aucune étude de toxicité chronique n'est disponible pour la voie cutanée.

Annexe 5 : Effets cancérogènes

Une seule étude de cancérogénicité a été menée en 1982 par le NTP. Des rats F344 et des souris B6C3F1 âgés de 5 semaines à l'initiation du traitement ont été exposés par voie orale (administration dans la nourriture) pendant 103 semaines (25 mois). Une augmentation de l'incidence du nombre de leucémies chez les rats mâles à la dose de 148 mg/kg pc/j, et une augmentation des tumeurs au niveau des cellules de Leydig, ainsi qu'une augmentation de l'incidence des leucémies chez les rats femelles ont été observées. Cependant ces résultats perdent leur significativité lors de l'ajustement sur la mortalité due à l'espérance de vie. De plus, les tumeurs des cellules de Leydig sont reconnues être très fréquentes chez cette souche de rat âgé (environ 88%), ce modèle n'est donc pas approprié pour mettre en évidence ce type de cancer. Chez les souris, l'augmentation du nombre de leucémies n'est pas significative. L'étude présente des limites au niveau de son protocole : nombre limité d'animaux par groupe de dose, observations cliniques limitées, manque de données sur le poids des organes,... De ce fait, les résultats sont débattus : Santé Canada (2008) a jugé ces données comme non convaincantes, le CFSAN'S cancer assessment committee (2009) considère que les cancers observés ne seraient pas liés à l'exposition au BPA, l'UE-RAR en 2008 conclut que le BPA ne produit pas d'augmentation significative du nombre de tumeurs dans cette étude qu'ils estiment néanmoins bien conduite (CE, 2010b).

Annexe 6 : Génotoxicité

Les études de génotoxicité *in vitro* ne montrent pas d'effet mutagène ni clastogène chez des cellules de bactérie, de champignon ou de mammifère UE-RAR, 2002 (CE, 2003; CE, 2010b). Cependant, la formation d'adduits à l'ADN (Tsuisui *et al.*, 1998) ainsi que des dommages sur des cellules MCF-7 et MDA-MB-231 (Iso *et al.*, 2006) ont été reportés. Par ailleurs, un effet aneugène du BPA est décrit, avec la formation de micronoyaux en l'absence d'activation métabolique dans des cultures de cellules embryonnaires du hamster de Syrie et des cultures de cellules du hamster chinois V79, respectivement (NTP, 2007; BESC, 2003; Haighton *et al.*, 2002). Le BPA perturberait la formation de microtubules dans des cellules et des systèmes cellulaires (Pfeiffer *et al.*, 1996 et 1997).

In vivo, un grand nombre d'études normalisées de génotoxique n'ont pas montré de pouvoir mutagène et clastogène. Les études mettant en évidence un effet aneugène sont néanmoins plus controversées. En effet, Hunt *et al.* (2003) observent une augmentation de l'échec de la congression (capture des chromosomes par les fibres kinétochoriennes et orientation au niveau de la plaque équatoriale en métaphase) et une augmentation des anomalies méiotiques. Cependant, cette étude présente des faiblesses méthodologiques et les effets n'ont pas été confirmés par Pacchietrotti *et al.*, 2008 qui ont étudié l'effet aneugène sur les cellules somatiques de souris exposées au BPA par voie orale.

Bien que l'effet aneugène reste débattu, les différents organismes, (CE, 2010b; FAO/OMS, 2010; Santé Canada, 2008) concordent sur l'absence d'effet mutagène et clastogène du BPA.

Annexe 7 : Tableau récapitulatif des études épidémiologiques analysées dans le cadre de ce rapport

Effets sur le sperme								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Li et al., 2011) Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality	Étude de cohorte	<u>Population investiguée</u> : travailleurs N total = 218 → Effectif suffisant	Urinaire (BPA libre et conjugué)	HPLC	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : maladies chroniques <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : oui (exposition antérieure à des métaux lourds et autres substances chimiques <u>Autres</u> : alcool, créatinine, éducation, histoire professionnelle, état marital, âge des 1ères relations sexuelles, lieu de l'étude	<u>Résultats</u> : Corrélation statistiquement significative entre les concentrations urinaires élevées en BPA et la diminution de la qualité du sperme (concentration, motilité, vitalité, numération spermatique), Pas de corrélation entre BPA urinaire et volume spermatique et morphologie ou volume Dans un sous-échantillon (n=87) de sujets non exposés au travail, une corrélation négative entre le BPA et la concentration et la numération spermatique <u>Commentaires</u> : Un certain nombre de sujets ont été perdus de vue.	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.2 Effets sur le système reproducteur mâle
(Meeker et al., 2010b) Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic	Eude transversale nichée dans une étude (2000-2004)	<u>Population investiguée</u> : hommes inféconds (18-55 ans) N = 190 hommes	Urinaire (BPA libre et conjugué) (<36,4 ng/mL)	HPLC/MS/MS	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : s/o <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : Non <u>Autres</u> : gravité spécifique,	<u>Résultats</u> : association entre une diminution de la concentration spermatique et pourcentage de formes typiques, une altération des caractéristiques du sperme, une augmentation de la fragmentation de l'ADN nucléaire du spermatozoïde, et la concentration urinaire en BPA <u>Commentaires</u> :	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.2 Effets sur le système reproducteur mâle

						<p>Un seul échantillon d'urine pour la moitié des hommes investigués et un seul prélèvement de sperme pour tous les participants.</p> <p>Il est important de noter que certains paramètres de l'analyse du sperme n'ont pas été réalisés en respectant les recommandations de l'OMS (OMS, 1999).</p>		
<p>(Mendiola et al., 2010)</p> <p>Are Environmental Levels of Bisphenol A Associated with Reproductive Function in Fertile Men?</p>	<p>Étude transversale</p>	<p><u>Population investiguée</u> : hommes fertiles (hommes ayant déjà eu au moins un enfant, partenaires de femmes enceintes)</p> <p>N = 375 hommes → Effectif suffisant</p>	<p>Urinaire - BPA libre et conjugué (<0,4 -6,5 ng/mL)</p>	<p>HPLC/MS/MS</p>	<p><u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : Non <u>Autres</u> : ethnie, créatinine urinaire et moment de prélèvement</p>	<p><u>Résultats</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Relation inverse entre concentration urinaire de BPA et l'index de testostérone libre (FAI) et le rapport FAI/LH - Association positive significative entre les concentrations urinaires en BPA et SHBG - Pas de association entre concentrations urinaires de BPA et caractéristiques spermatiques <p>Ces résultats peuvent refléter un effets oestrogénomimétiques du BPA.</p> <p><u>Commentaires</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - population sélectionnée = hommes fertiles seulement 	<p>Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures</p>	<p>6.1 Apport des études épidémiologiques</p> <p>6.2 Effets sur le système reproducteur mâle</p>

Effets sur les hormones sexuelles								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Cha et al., 2008) Influence of occupational exposure to bisphenol A on the sex hormones of male epoxy resin painters	Étude cas témoins	<u>Population investiguée</u> : population professionnelle (homme) N = 25 cas (peintres résine époxy) vs 25 témoins (non peintres) → Effectif faible	Urinaire	HPLC	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : Non	<u>Résultats</u> : Augmentation significative de LH et FSH Diminution significative de testostérone	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude a été écartée compte tenu des faiblesses méthodologiques suivantes : - faible effectif, - exposition potentielle à plusieurs solvants organiques, - observations non extrapolables à la population générale, - trop grande proportion de fumeurs et de consommateurs de boisson alcoolisée.	6.1 Apport des études épidémiologiques
(Galloway et al., 2010) Daily Bisphenol A Excretion and Associations with Sex Hormone Concentrations : Results from the InCHIANTI Adult Population Study	Étude transversale nichée dans l'étude italienne prospective InCHIANTI	<u>Population investiguée</u> : population générale adulte (20-74 ans) N = 715 → Effectif suffisant	Urinaire (BPA libre et conjugué)	HPLC/MS/MS	<u>Age</u> : Oui <u>Sexe</u> : oui <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : Non <u>Autres</u> : nombre d'année d'étude, circonférence abdominale, créatinine	<u>Résultats</u> : Chez les hommes (n=307) : association significative entre excrétion BPA journalière et les concentrations en testostérone totale (fortement significative après ajustement). Chez les femmes, pas d'association entre BPA et les concentrations en testostérone totale ou d'œstradiol. Chez tous les sujets : association significative entre l'excrétion journalière de BPA et les mesures d'adiposité (BMI et circonférence abdominale) <u>Commentaires</u> :	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.2 Effets sur le système reproducteur mâle

						- Urine de 24h dans les bouteilles en plastiques. - Pas de mesure de la FSH.		
(Meeker et al., 2010a) Urinary Bisphenol A Concentrations in Relation to Serum Thyroid and Reproductive Hormone Levels in Men from an Infertility Clinic	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : hommes consultant pour des problèmes de fertilité N = 167 cas vs 190 témoins	Urinaire (BPA libre et conjugué) (0,4 à 36,4 ng/mL)	HPLC/MS/MS	<u>Age</u> : Oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : s/o <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : Non <u>Autres</u> : saison, moment de prélèvement, gravité spécifique	<u>Résultats</u> : - Association positive entre concentrations urinaires en BPA et la FSH et le ratio FSH/inhibine B - Association négative entre concentrations urinaires en BPA et le ratio œstradiol/testostérone, TSH, inhibine B et index de testostérone libre et œstradiol. <u>Commentaires</u> : Des réserves peuvent être émises concernant cette étude : - elle porte sur une population particulière d'hommes consultant pour des problèmes d'infertilité dans le couple.	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.2 Effets sur le système reproducteur mâle 6.6 Effets sur la thyroïde
(Mendiola et al., 2010) Are Environmental Levels of Bisphenol A Associated with Reproductive Function in Fertile Men?	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : hommes fertiles (hommes ayant déjà eu au moins un enfant, partenaires de femmes enceintes) N = 375 hommes → Effectif suffisant	Urinaire - BPA libre et conjugué (<0,4 - 6,5 ng/mL)	HPLC/MS/MS	<u>Age</u> : Oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : Non <u>Autres</u> : ethnologie, créatinine urinaire et moment de prélèvement	<u>Résultats</u> : - Relation inverse entre concentration urinaire de BPA et l'index de testostérone libre (FAI) et le rapport FAI/LH - Association positive significative entre les concentrations urinaires en BPA et SHBG - Pas d'association entre concentrations urinaires de BPA et caractéristiques spermatiques Ces résultats peuvent refléter un effets oestrogénomimétiques du BPA. <u>Commentaires</u> : - population sélectionnée = hommes fertiles seulement	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.2 Effets sur le système reproducteur mâle
(Takeuchi et al., 2004) Positive	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : population	Sérique	ELISA (validation de la méthode de	<u>Age</u> : non <u>Sexe</u> : s/o	<u>Résultats</u> : corrélations entre concentrations plasmatiques en testostérone	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques

relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction		générale : femmes N = 7 patientes souffrant d'hyperprolactinémie, 21 avec une aménorrhée hypothalamique, 19 avec SOPK (13 non obèses et 6 obèses) vs 26 témoins (7 obèses ou 19 non obèses) -> Effectif faible		dosage par HPLC)	<u>Médicaments</u> : s/o <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : non	(libre et totale) et BPA d'une part, et concentration en BPA et indice de masse corporelle d'autre part : les taux sont significativement augmentés chez les femmes ayant un SOPK (obèses ou non) et les obèses sans trouble de l'ovulation. <u>Commentaires</u> : Les résultats restent difficilement interprétables en l'état, à cause de l'imprécision du plan d'échantillonnage, du manque d'information sur les critères d'inclusion et de l'absence de prise en compte dans les résultats des pathologies des témoins.	Cette étude a été écartée compte tenu des faiblesses méthodologiques suivantes : - faible effectifs, - analyse statistique peu détaillée, - la comparaison finale est faite par rapport aux femmes non obèses, sans trouble du cycle (considérées comme témoins) - absence d'ajustement à des facteurs confondants, - les dosages plasmatiques du BPA par la technique ELISA dans le plasma (limite mineure).	6.5 effets sur le métabolisme et le système cardiovasculaire
--	--	---	--	------------------	--	--	--	--

Effets sur la fonction sexuelle								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Li <i>et al.</i> , 2010a) Occupational exposure to bisphenol A and the risk of self- reported male sexual dysfunction	Étude de cohorte (2004-2008)	<u>Population investiguée</u> : population professionnelle (hommes) N = 230 exposés (1 usine de production de BPA et 3 usines de production de résines) vs 404 témoins non exposés issus de « plusieurs » usines (matériaux de construction, fournisseurs d'eau, textiles, électronique, commerces, ...) du même secteur géographique que usine de production de BPA (284 volontaires et 120 maris de femmes travaillant dans ces usines)	Urinaire Air : Protocole comporte des mesures de la teneur de BPA dans l'atmosphère sur les lieux de travail, l'historique des expositions, le monitoring individuel, un inventaire des équipements de protection, des mesures d'hygiène ainsi que le relevé des expositions à d'autres produits. Volontaires répartis en sous- groupes en fonction critères ci-dessus, Mesures de BPA réalisées pour chacun au poste de travail et à défaut, valeur moyenne de l'atelier retenue. Mesure d'exposition exprimée en valeur cumulée.	HPLC (air) Méthode non précisée pour les dosages urinaires	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : pathologies chroniques <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : co- exposition à des composés chimiques <u>Autres</u> : éducation, état marital, histoire professionnelle	<u>Résultats</u> : risque significativement augmenté de troubles sexuels (fonction érectile, fonction orgasmodique, désir sexuel, satisfaction globale vie sexuelle) <u>Commentaires</u> : Imprécision de la mesure de l'effet : utilisation d'un questionnaire pour évaluer le risque de troubles érectiles entraîne un risque de surestimation intégrant l'International Index of Erectile Function Inventory renseignés par les enquêtés (analyse par odds ratios avec IC _{95%})	Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.2 Effets sur le système reproducteur mâle

<p>(Li et al., 2010b)</p> <p>Relationship between urine BPA level and declining men sexual function.</p>	<p>Étude transversale</p>	<p><u>Population investiguée</u> : population professionnelle (hommes) (fabrique de résine époxy)</p> <p>N total = 427 (173 exposés vs 254 non exposés) → Effectif suffisant</p>	<p>Urinaire (BPA libre et conjugué)</p>	<p>HPLC/FD</p>	<p><u>Age</u> : non <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : pathologies chroniques <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : oui (autres produits chimiques ou métaux lourds) <u>Autres</u> : caractéristiques démographiques, alcool, histoire professionnelle</p>	<p><u>Résultats</u> : Corrélation entre mesures BPA urinaire et diminution de la fonction sexuelle.</p> <p>Relation négative entre concentrations urinaires en BPA les plus élevées et la diminution du désir sexuel, une augmentation des difficultés pour avoir une érection, une diminution de la force d'éjaculation, une diminution globale de satisfaction à vie sexuelle</p> <p><u>Commentaires</u> : L'écart très important dans la fréquence des troubles de la vie sexuelle entre les sujets exposés et non exposés mérite d'être noté, mais il pourrait aussi être attribué à un biais comme par exemple, les entretiens ne se faisaient probablement pas à l'aveugle du statut du travailleur vis-à-vis de l'exposition ou encore le choix des valeurs seuils des événements de la vie sexuelle estimés à partir d'une échelle non explicitée.</p>	<p>Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures</p>	<p>6.1 Apport des études épidémiologiques</p> <p>6.2 Effets sur le système reproducteur mâle</p>
---	---------------------------	--	---	----------------	---	--	--	--

Fausse-couches / avortements spontanés								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Sugiura- Ogasawara et al., 2005) Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage	Étude cas témoins	<u>Population investiguée</u> : population générale : femmes ayant eu un antécédent d'au moins 3 fausses au 1er trimestre N = 45 cas vs /32 témoins (médecins, infirmières, secrétaires dans l'école de médecine) → Effectif faible	Sérique	ELISA	<u>Age</u> : non <u>Sexe</u> : non <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : Non	<u>Résultats</u> : - association positive avec Ac anti- nucléaire mais pas avec les autres paramètres - taux sérique de BPA supérieur chez les femmes ayant un antécédent de 3 fausses couches.	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude a été écartée en raison des faiblesses méthodologiques suivantes : - faibles effectifs, - choix du groupe contrôle discutable (aucune preuve de tentative de grossesse dans ce groupe), - liste limitée de facteurs confondants à considérer. - méthode analytique (ELISA) qui ne discrimine pas les différentes formes de BPA, - autres facteurs confondants de fausse-couche, - sur le plan de l'analyse des résultats (niveaux sériques médians identiques dans les deux groupes) - sur les outils statistiques choisis	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle

Puberté et développement mammaire								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Wolff et al., 2008a) Environmental exposures and puberty in inner-city girls	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : fille de 9 ans N = 192 => 186 au final → Effectif OK	Urinaire	Non précisée	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : oui <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : oui <u>Autres</u> : race, ethnie, créatinine urinaire, taille, complété par l'ensemble des prédicteurs identifiés par des comparaisons significatives au seuil 20 %.	<u>Résultats</u> : Pas de modification de l'âge de survenue de la puberté chez les filles. <u>Commentaires</u> : la puissance de l'étude n'est pas connue et la taille de l'étude n'est pas si grande	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle
(Wolff et al., 2010) Investigation of Relationships between Urinary Biomarkers of Phytoestrogens, Phthalates, and Phenols and Pubertal Stages in Girls	Étude de cohorte prospective	<u>Population investiguée</u> : filles entre 6 et 8 ans N = 1151 → Effectif excellent	Urinaire	Non précisée	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : oui (en particulier, « endocrine medical conditions excluded ») <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : oui <u>Autres</u> : race/ethnie (pour les patientes de Mount Sinai School of Medicine)	<u>Résultats</u> : Pas de modification de l'âge de survenue de la puberté chez les filles.	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle

Effets sur la prématurité								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Cantonwine et al., 2010) Bisphenol a exposure in Mexico City and risk of prematurity: a pilot nested case control study	Étude mexicaine, rétrospective de type cas-témoins nichée dans une étude de cohorte	<u>Population investiguée</u> : femmes enceintes N = 30 cas (accouchement < 37 semaines de grossesse) vs 30 témoins (accouchement >38 semaines de grossesse) → effectif limité	Urinaire	HPLC/MS/MS	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : s/o (femmes non fumeuses mais tabagisme passif non pris en compte) <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : oui (métabolites urinaires des phtalates) <u>Autres</u> : éducation maternelle, statut marital, sexe des enfants	<u>Résultats</u> : le groupe « prématuré » (accouchement <37 semaines de grossesse, n=12) a environ 2 fois plus de BPA que les témoins <u>Commentaires</u> : - Prématurité basée uniquement sur âge gestationnel à l'accouchement, pas de mesures échographiques. Compte tenu de l'hétérogénéité de ce groupe (césariennes électives, accouchement spontané, pré éclampsie, etc.), il est difficile de cerner l'effet hypothétique; - Pas de mesures de plomb et d'autres contaminants ; - Une seule mesure du BPA (un seul spot urinaire), pas de mesures répétées, - Absence d'information sur le tabagisme passif et d'autres facteurs de risque de prématurité (histoire obstétricale)	Étude présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude n'a pas été retenue en raison des limites suivantes : - tabagisme passif non pris en compte, - autres facteurs de risque de prématurité non pris en compte (histoire obstétricale) - Mode d'accouchement non précisé (césarienne ? naissances spontanées ?) - effectif trop faible pour avoir une puissance statistique suffisante pour déterminer l'effet d'une exposition environnementale à faible dose. - En effet, cet effectif est à peine suffisant à l'application des tests statistiques paramétriques tels que réalisés par les auteurs.	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle

Effets ovariens								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Mok-Lin et al., 2010) Urinary bisphenol A concentrations and ovarian response among women undergoing IVF	Étude de cohorte prospective	<u>Population investiguée</u> : femmes suivant un protocole de stimulation ovarienne dans le cadre d'une FIV (21-44 ans) N = 84 femmes (112 cycles de FIV) → Effectif suffisant	Urinaire (BPA libre et conjugué)	HPLC/MS/MS	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : non <u>Autres</u> : gravité spécifique, FSH à jour 3	<u>Résultats</u> : la concentration urinaire en BPA est associée: - à la diminution du nombre d'ovocytes récupérés après stimulation - à la diminution des pics d'œstradiol sérique BPA détecté de manière majoritaire chez les femmes ayant recours à une FIV <u>Commentaires</u> : - l'urine pour le BPA a été prélevée 2 fois, une moyenne géométrique a été calculée pour chaque sujet. - La concentration de BPA urinaire retrouvée reflète une exposition au moment du prélèvement et non durant la période de maturation folliculaire, plusieurs mois auparavant. - Il est délicat d'extrapoler à la population générale des résultats observés chez un échantillon de femmes infertiles consultant pour une FIV.	Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle
(Cobellis et al., 2009) Measurement of Bisphenol A and Bisphenol B Levels in Human Blood Sera From Healthy and Endometriotic Women	Étude chez l'Homme	<u>Population investiguée</u> : femmes fertiles consultant dans un service de gynécologie obstétrique pour des douleurs pelviennes chroniques, des dysménorrhées	Sérique Rq : mesure du Bisphénol B également	HPLC/fluorescence	<u>Age</u> : non <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> :	<u>Résultats</u> : Absence de bisphénols chez les témoins BPA chez 30 sérums (51,7%) Présence d'au moins un des 2 bisphénol a été vérifiée chez les femmes porteuses d'endométriose (63,8%)	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude est écartée en raison : - du faible effectif (11 témoins seulement), - de la description très limitée	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle

		ou kystes ovariens N = 58 cas (endométriase) vs 11 témoins (même population mais sans endométriase) → Effectif des témoins faible			non	<u>Commentaires :</u> Cette étude est plutôt concentrée sur les aspects analytiques, en particulier sur les techniques de dosage mises en œuvre pour analyser le BPA sérique.	des résultats - analyse statistique descriptive simple sans ajustement	
(Fujimoto et al., 2011) Serum unconjugated bisphenol A concentrations in women may adversely influence oocyte quality during in vitro fertilization	Étude de cohorte	<u>Population investiguée :</u> couple en cours de FIV (femmes infertiles ayant une stimulation ovarienne et leur partenaire homme) N = 58 femmes et 37 hommes	Sérique (BPA non conjugué)	HPLC/ESA coularray 5600 detector	<u>Age :</u> oui <u>Sexe :</u> non <u>Médicaments :</u> non <u>Tabac :</u> oui <u>IMC :</u> non <u>Autres contaminants :</u> non <u>Autres :</u> ethnique	<u>Résultats :</u> Association significative entre la concentration sérique en BPA des femmes et la diminution du taux de fertilisation des ovocytes <u>Commentaires :</u> Les patients ayant eu recours aux deux procédures de fécondation in vitro (sans et avec micro-injection de spermatozoïdes) ont été considérés comme un seul groupe. Or, la qualité des gamètes mâles est différente dans ces deux groupes.	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle
(Hiroi et al., 2004) Differences in serum bisphenol A concentrations in premenopausal normal women and women with endometrial hyperplasia	Étude transversale	<u>Population investiguée :</u> femmes N = 19 patientes présentant une hyperplasie endométriale (2 groupe en fonction de la complexité : 10 avec hyperplasie "simple" et 9 avec hyperplasie "complexe") et 7 avec un carcinome endométriale vs 11 témoins →	Sérique	ELISA	<u>Age :</u> non <u>Sexe :</u> s/o <u>Médicaments :</u> non <u>Tabac :</u> non <u>IMC :</u> non <u>Autres contaminants :</u> non	<u>Résultats :</u> Corrélation inverse à celle attendue : les témoins ont plus de BPA que les cas (non significatif). Concentration sérique BPA = 2,9 ng/mL chez les femmes avec hyperplasie simple vs 1,4 ng/mL chez femmes avec hyperplasie complexe. Même relation inverse observée chez femmes porteuses d'un carcinome endométriale	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude n'a pas été retenue en raison de limites suivantes: - effectif trop restreint, - non prise en compte de facteurs confondants.	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle

		Effectif limité						
(Itoh et al., 2007) Urinary bisphenol-A concentration in infertile Japanese women and its association with endometriosis : A cross-sectional study	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : Patientes se plaignant majoritairement d'infertilité (endométriose, 24-43 ans) N = 140 -> Effectif suffisant	Urinaire (BPA total)	HPLC/MS	<u>Age</u> : non <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : non <u>Autres</u> : créatinine	<u>Résultats</u> : Pas d'association significative entre le taux de BPA urinaire (non ajusté et ajusté à la créatinine) et le stade de l'endométriose <u>Commentaires</u> : - le dosage du BPA urinaire ne reflète pas une imprégnation au long cours mais une exposition récente. - pas de groupe témoin véritable dépourvu de pathologie, - prélèvement urinaire stocké dans un tube en plastique pendant 5 ans au congélateur	Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle
(Kandaraki et al., 2011) Endocrine Disruptors and Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Elevated Serum Levels of Bisphenol A in Women with PCOS	Étude transversale, appariée sur l'âge et l'IMC	<u>Population investiguée</u> : femmes N = 71 cas (femmes avec SOPK) vs 100 témoins → Effectif suffisant	Sérique	ELISA	<u>Age</u> : oui (via l'appariement) <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : s/o <u>Tabac</u> : s/o <u>IMC</u> : oui (via l'appariement) <u>Autres contaminants</u> : non <u>Autres</u> : via une analyse multivariée (paramètres anthropométriques, hormonaux et métaboliques)	<u>Résultats</u> : - Concentrations sériques en BPA significativement plus importantes chez les femmes atteintes de SOPK (obèses ou non) comparées aux femmes témoins normales. - Chez les femmes atteintes de SOPK (obèses ou non) : taux de testostérone et ratio LH/FSH significativement augmentés alors que niveaux de SHBG étaient plus faibles par rapport aux témoins. - Concentrations en BPA sont significativement corrélées aux concentrations en testostérone et androstènedione et à une insulino-résistance. - Concentrations en BPA sont significativement corrélées avec l'existence de SOPK.	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude a été écartée en raison de : - méthode analytique (ELISA) qui ne discrimine pas les différentes formes de BPA.	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle
(Takeuchi et al., 2004) Positive	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : population générale :	Sérique	ELISA (validation de la méthode de dosage par	<u>Age</u> : non <u>Sexe</u> : s/o	<u>Résultats</u> : corrélation entre concentrations plasmatiques en testostérone	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques

relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction		femmes N = 7 patientes souffrant d'hyperprolactinémie, 21 avec une aménorrhée hypothalamique, 19 avec SOPK (13 non obèses et 6 obèses) vs 26 témoins (7 obèses ou 19 non obèses) -> Effectif faible		HPLC)	<u>Médicaments</u> : s/o <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : non	(libre et totale) et BPA d'une part, et concentration en BPA et indice de masse corporelle d'autre part : les taux sont significativement augmentés chez les femmes ayant un SOPK (obèses ou non) et les obèses sans trouble de l'ovulation. <u>Commentaires</u> : Les résultats restent difficilement interprétables en l'état, à cause de l'imprécision du plan d'échantillonnage, du manque d'information sur les critères d'inclusion et de l'absence de prise en compte dans les résultats des pathologies des témoins.	Cette étude a été écartée compte tenu des faiblesses méthodologiques suivantes : - faible effectifs, - analyse statistique peu détaillée, - la comparaison finale est faite par rapport aux femmes non obèses, sans trouble du cycle (considérées comme témoins) - absence d'ajustement à des facteurs confondants, - les dosages plasmatiques du BPA par la technique ELISA dans le plasma (limite mineure).	6.3 Effets sur le système reproducteur femelle
--	--	--	--	-------	--	--	--	--

Effets sur le comportement des enfants								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Braun <i>et al.</i>, 2009) Prenatal Bisphenol A Exposure and Early Childhood Behavior	Étude de cohorte prospective	<u>Population investiguée</u> : Mères et leurs enfants de 2 ans (incluent dans le programme Health Outcomes and Measures of the Environment Study; utilisation d'une bio banque existante, recrutement en 2003) N = 249 mères et leurs enfants de 2 ans -> Effectif suffisant	Urinaire (chez les mères à 16 et 26 semaines de gestation et à naissance) BPA libre et conjugué	HPLC/MS/MS	<u>Age</u> : oui (sur l'âge de la mère) <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : s/o <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : s/o <u>Autres contaminants</u> : oui	<u>Résultats</u> : Association positive avec un comportement d'externalisation <u>Commentaires</u> : - pas de fiabilité biologique - utilisation d'une biobanque existante (recrutement en 2003) – les échantillons ont été conservés pendant 4-5 ans, *questionnaire – pas de mesures directes de BPA urinaire chez l'enfant, L'étude a fait objet d'une analyse très critique (Human Data on Bisphenol A and Neurodevelopment doi:10.1289/ehp.0901610) dont les remarques sont bien justifiées.	Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.4 Effets sur le cerveau et le comportement
(Miodovnik <i>et al.</i>, 2011) Endocrine disruptors and childhood social impairment	Étude de cohorte prospective	<u>Population investiguée</u> : enfants de 7 à 9 ans N = 137 enfants	Urinaire (Chez les 404 mères entre la 25ème et la 40ème semaine de grossesse)	Non précisé	<u>Age</u> : oui (âge maternelle et âge exact de l'enfant à l'examen) <u>Sexe</u> : oui (sexe des enfants) <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : non	<u>Résultats</u> : Aucune association significative n'a été retrouvée entre les taux urinaires de BPA et des troubles sociaux. Le BPA était corrélé positivement avec la sévérité des troubles sociaux (« Social Responsiveness Scale »), mais cette relation était non statistiquement significative.	Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.4 Effets sur le cerveau et le comportement

					Autres : créatinine urinaire des enfants, statut marital à la date de suivi, niveau de formation des mères, race, QI des mères et des enfants			
--	--	--	--	--	---	--	--	--

Effets sur le métabolisme /système cardiovasculaire								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Hong <i>et al.</i>, 2009) Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : population générale adulte N = 960 → Effectif excellent	Urinaire	HPLC/MS	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : oui <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : oui <u>Autres</u> : activité physique, histoire médicale et professionnelle, alcool	<u>Résultats</u> : Relation positive significative entre concentrations urinaires de contaminants chimiques, notamment phtalates et BPA, et marqueurs de stress oxydatif dans une analyse de régression simple (non significatif si analyse de régression multiple pour le BPA) Sujets avec les teneurs élevées en BPA tendaient une hyperglycémie a jeun mais pas associé avec les indices de résistance à l'insuline	Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.5 Effets sur le métabolisme et le système cardio-vasculaire
(Lang <i>et al.</i>, 2008) Association of Urinary Bisphenol A Concentration With Medical Disorders and Laboratory Abnormalities in Adults	Étude transversale nichée dans l'étude NHANES (2003-2004)	<u>Population investiguée</u> : population générale adulte (18-74 ans) N = 1455 adultes -> Effectif suffisant	Urinaire (BPA libre et conjugué)	HPLC/MS	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : oui <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : non <u>Autres</u> : créatinine urinaire, ethnie/race, éducation, ressources financières, tour de taille	<u>Résultats</u> : association positive entre les concentrations urinaires les plus élevées en BPA (5 et 13 ng/mL) et les maladies cardiovasculaires, le diabète et les niveaux sanguins des enzymes hépatiques <u>Commentaires</u> : Étude qui mérite une attention particulière car : - étude puissante avec un beau design, - les associations sont très robustes, - la taille d'échantillon est importante, - basée sur des cohortes nationales américaines, Cependant, le fait de prendre des médicaments n'a pas été pris en compte	Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.5 Effets sur le métabolisme et le système cardio-vasculaire

						et l'exposition contemporaine n'est pas forcément représentative de l'exposition antérieure qui est corrélée avec l'effet observé, <u>Remarque</u> : Les études de Melzer et Lang ont été réalisées à 2 ans d'intervalle avec le même type de protocole.	
(Melzer <i>et al.</i>, 2010) Association of Urinary Bisphenol A Concentration with Heart Disease: Evidence from NHANES 2003/06	Étude transversale nichée dans l'étude NHANES (2003-2006)	<u>Population investiguée</u> : population générale adulte (18-74 ans) N = 1455 (2003/04) et 1493 (2005/06) -> Effectif suffisant	Urinaire (BPA libre et conjugué)	HPLC/MS	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : oui <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : non <u>Autres</u> : créatinine urinaire, ethnique/race, éducation, ressources financières, tour de taille	<u>Résultats</u> : - En 2005/06 : association significative entre les concentrations urinaires en BPA les plus élevées et les maladies coronariennes. Pas association entre les concentrations urinaires en BPA et le diabète. - En 2003/06 : association significative entre les concentrations urinaires en BPA les plus élevées et les pathologies cardiaques, le diabète, phosphatase alcaline et lactate deshydrogénase. <u>Commentaires</u> : Étude qui mérite une attention particulière car : - bon design et bonne puissance (80 % pour la population des 2003/2004 et 74% pour la population 2005/2006) - les associations sont robustes, - la taille d'échantillon est importante, - basée sur des cohortes nationales américaines, Cependant, le fait de prendre des médicaments n'a pas été pris en compte et l'exposition contemporaine n'est pas forcément représentative de l'exposition antérieure qui est corrélée avec l'effet	Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures 6.1 Apport des études épidémiologiques 6.5 Effets sur le métabolisme et le système cardio-vasculaire

						observé. <u>Remarque</u> : Les études de Melzer <i>et al.</i> et Lang <i>et al.</i> ont été réalisées à 2 ans d'intervalle avec le même type de protocole.		
(Takeuchi <i>et al.</i>, 2004) Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : population générale : femmes N = 7 patientes souffrant d'hyperprolactinémie, 21 avec une amenorrhée hypothalamique, 19 avec SOPK (13 non obèses et 6 obèses) vs 26 témoins (7 obèse ou 19 non obèses) -> Effectif faible	Sérique	ELISA (validation de la méthode de dosage par HPLC)	<u>Age</u> : non <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : s/o <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : non	<u>Résultats</u> : corrélation entre concentrations plasmatiques en testostérone (libre et totale) et BPA d'une part, et concentration en BPA et indice de masse corporelle d'autre part : les taux sont significativement augmentés chez les femmes ayant un SOPK (obèses ou non) et les obèses sans trouble de l'ovulation. <u>Commentaires</u> : Les résultats restent difficilement interprétables en l'état, à cause de l'imprécision du plan d'échantillonnage, du manque d'information sur les critères d'inclusion et de l'absence de prise en compte dans les résultats des pathologies des témoins.	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude a été écartée compte tenu des faiblesses méthodologiques suivantes : - faible effectifs, - analyse statistique peu détaillée, - la comparaison finale est faite par rapport aux femmes non obèses, sans trouble du cycle (considérées comme témoins) - absence d'ajustement à des facteurs confondants, - les dosages plasmatiques du BPA par la technique ELISA dans le plasma (limite mineure).	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.3 Effets sur le système reproducteur femelle 6.5 Effets sur le métabolisme et le système cardiovasculaire (

Effets sur le poids à la naissance								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Padmanabhan et al., 2008) Maternal bisphenol-A levels at delivery: a looming problem?	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : population générale : femme au moment de l'accouchement N = 40 femmes enceintes → Effectif faible	Plasmatique (chez les mères) (libre)	HPLC/ESI-MS/MS	<u>Age</u> : non <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : non <u>Autres contaminants</u> : non <u>Autres</u> : non	<u>Résultats</u> : Pas d'association entre les concentrations plasmatiques de BPA et la durée de gestation et le poids à la naissance <u>Commentaires</u> : - Un seul dosage de BPA réalisé à la naissance et non en début ou milieu de grossesse	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude a été écartée en raison des faiblesses méthodologiques suivantes : - faible effectif, - pas d'ajustement sur les facteurs de confusion, - pas mesure de BPA conjugué.	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.5 Effets sur le métabolisme et le système cardiovasculaire
(Wolff et al., 2008b) Prenatal Phenol and Phthalate Exposures and Birth Outcomes	Étude prospective	<u>Population investiguée</u> : population générale (femme) N = 367 → Effectif Ok	Urinaire	HPLC	<u>Age</u> : oui (âge gestationnel) <u>Sexe</u> : oui (des enfants) <u>Médicaments</u> : s/o <u>Tabac</u> : oui (pendant la grossesse) <u>IMC</u> : oui (pré-gestationnel) <u>Autres contaminants</u> : oui <u>Autres</u> : créatinine, race, éducation des mères	<u>Résultats</u> : aucune association significative entre le BPA et poids à la naissance, taille de bébé, tour de tête et l'âge gestationnel <u>Commentaires</u> : - Un seul dosage réalisé; - Faible taux plasmatique de BPA; - Pas d'association entre les concentrations plasmatiques de BPA et effets sur les nouveau-nés	Études de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.5 Effets sur le métabolisme et le système cardiovasculaire

Effets sur les hormones thyroïdiennes								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Meeker <i>et al.</i>, 2010a) Urinary Bisphenol A Concentration in Relation to Serum Thyroid and Reproductive Hormone Levels in Men from an Infertility Clinic	Étude transversale	<u>Population investiguée</u> : hommes consultant pour des problèmes de fertilité N = 167 cas vs 190 témoins	Urinaire (BPA libre et conjugué) (0,4 à 36,4 ng/mL)	HPLC/MS/MS	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : s/o <u>Tabac</u> : oui <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : Non <u>Autres</u> : saison, moment de prélèvement, gravité spécifique	<u>Résultats</u> : - Association positive entre concentrations urinaires en BPA et la FSH et le ratio FSH/inhibine B - Association négative entre concentrations urinaires en BPA et le ratio œstradiol/testostérone, TSH, inhibine B et index de testostérone libre et œstradiol. <u>Commentaires</u> : Au moins 2 prises urinaires voire 4 fois.	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude a été écartée pour le raisons suivantes: - elle porte sur une population particulière d'hommes consultant pour des problèmes d'infertilité dans le couple. - les aspects thyroïdes apparaissent comme « opportunistes », l'étude ayant été faite par rapport à une problématique de fertilité et le protocole ne prend pas en compte des particularités propres à l'exploration de la fonction thyroïdienne. - le degré de signification de cette corrélation dépend du nombre de prélèvements urinaires inclus dans le calcul de la moyenne géométrique (de 1 à 3 pour chaque individu). Or, seulement 75 patients ont fait l'objet de prélèvements répétés. Si l'analyse porte sur la corrélation entre TSH et la seule mesure de BPA urinaire effectuée le jour du prélèvement sur l'ensemble des patients (n=167), ou entre TSH au premier prélèvement et la moyenne géométrique des concentrations en BPA sur les 3 prélèvements, limitée aux 75 patients ayant eu des prélèvements multiples, aucune corrélation significative ne peut être mise en évidence.	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.2 Effets sur le système reproducteur mâle 6.6 Effets sur la thyroïde

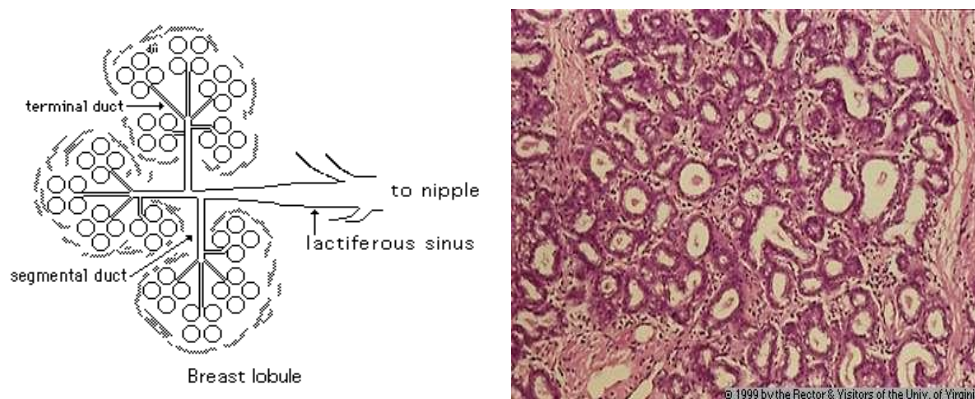
Effets sur le système immunitaire								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Clayton <i>et al.</i> , 2011) The Impact of Bisphenol A and Triclosan on Immune Parameters in the US Population, NHANES 2003- 2006	Étude nichée dans l'étude NHANES (2003-2006)	<u>Population investiguée</u> : population générale stratifiée avec une surreprésentatio n d'américains d'origine africaine, mexicaine et américaine et de plus de 60 ans N = 787 (Ac anti- CMV) N = 2133 (allergie)	Urinaire	HPLC/MS	<u>Age</u> : oui <u>Sexe</u> : oui <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : non <u>IMC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : Non <u>Autres</u> : ethnie, niveau de créatinine, revenus, réussite scolaire	<u>Résultats</u> : Pour les > ou = 18 ans : concentrations les plus élevées en BPA sont associées avec une augmentation des Ac anti CMV, Pour les < 18 ans : relation négative entre concentration urinaires en BPA et les concentrations en Ac anti CM <u>Commentaires</u> : Une association positive avec les anticorps de cytomégalovirus a été observée, mais la portée et la causalité de cette relation reste incertaine. De plus, les auteurs ont travaillé sur une population avec « detectable BPA », ce qui laisse supposer que les individus avec les niveaux au dessous de la limite de détection ont été écartés, ce qui est vraiment discutabile comme méthode de sélection.	Étude de bonne qualité ou ne présentant pas de limites méthodologiques majeures	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.7 Effets sur le système immunitaire

Cancer du sein								
Référence Titre de l'article	Type d'étude	Population investiguée	Mesure de BPA	Méthode analytique	Ajustements	Résultats / discussion	Qualité de l'étude	Chapitre(s) concerné(s)
(Yang <i>et al.</i> , 2009) Effects of bisphenol A on breast cancer and its risk factors	Étude transversale appariée sur l'âge	<u>Population investiguée</u> : population générale (femmes) N = 70 cas (femmes porteuses d'un cancer du sein) et 82 témoins → La taille de l'effectif est difficile à évaluer car la différence attendue est faible	Sang (BPA libre et conjugué) BPA conjugué utilisé comme biomarque ur (sang conservé plus de 10 ans dans des Ependorff)	HPLC/FD	<u>Age</u> : Oui (appariement et ajustement sur l'âge) <u>Sexe</u> : s/o <u>Médicaments</u> : non <u>Tabac</u> : oui <u>MC</u> : oui <u>Autres contaminants</u> : Non <u>Autres</u> : âge à la ménopause	<u>Résultats</u> : Pas de différence significative entre les concentrations sanguines de BPA chez les cas par rapport aux témoins.	Études non retenues car présentant des limites méthodologiques majeures Cette étude a été écartée pour le raisons suivantes: - La taille de l'effectif est difficile à évaluer car la différence attendue est faible, - prélèvement sanguin conservé dans des tubes Ependorff pendant plus de 10 ans, - recrutement fait en 1994-97, - BPA analysé uniquement dans le sang (sans préciser s'il s'agit du sang total ou du plasma) dans un seul échantillon - Absence de prélèvement urinaire.	6.1 Apport des études épidémiologiques 6.11 Effets sur le sein

Annexe 8 : Etat des connaissances sur les lésions préneoplasiques du sein - Eléments de langage

La fréquence avec laquelle les anatomopathologistes et les cliniciens sont confrontés aux lésions préneoplasiques ou précancéreuses du sein a beaucoup augmenté avec la généralisation du dépistage mammographique et, à un moindre degré, avec l'amélioration de la prise en charge anatomopathologique des pièces opératoires.

Les lésions précancéreuses du sein correspondent à des proliférations épithéliales atypiques qui se développent à l'intérieur de l'arbre galactophorique et sont de deux types : canalaire et lobulaire. Ces deux types se différencient non pas par leur localisation mais par leur type cellulaire constitutif. En effet, en 1994, Wellings *et al* ont montré que la majorité des lésions préinvasives du sein prenaient naissance dans l'**unité terminale ductulobulaire** ou TDLU très sensible aux facteurs hormonaux et située à la terminaison des canaux galactophoriques et à leur jonction avec les lobules (Wellings et Alpers, 1994).



TDLU: High power view showing the two-cell layer epithelium

Figure 1 : anatomie du sein et unité terminale ductulobulaire

Les deux types, canaux et lobulaires, se distinguent au plan moléculaire par la présence au niveau des membranes cytoplasmiques d'une protéine du complexe de jonction intercellulaire : l'E-cathérine.

Le diagnostic histologique des lésions pré-cancéreuses est difficile et la **reproductibilité inter-pathologistes** est **médiocre** comme l'attestent un certain nombre d'études. Le diagnostic semble un peu amélioré grâce à l'apport de l'immunohistochimie dans les lésions qui présentent un profil spécifique (MacGrogan *et al.*, 2008).

Afin de faciliter le diagnostic et la prise en charge des lésions précancéreuses, une **nouvelle terminologie** a été proposée au début des années 2000 et adoptée par l'OMS en 2003. Elle se superpose à la terminologie traditionnelle et est **basée sur des critères morphologiques** et non moléculaires.

Classification OMS 2003 des lésions précancéreuses

Elle repose sur les termes de néoplasie intraépithéliale canalaire/ductal : DIN ou lobulaire/lobular : LIN. Les proliférations épithéliales canalaire se divisent en cinq catégories et les proliférations lobulaires en trois catégories.

Néoplasie intra-épithéliale de type canalaire ou ductal

1. Métaplasie cylindrique atypique (MCA) : DIN-1A
2. Hyperplasie canalaire atypique (HCA) : DIN-1B
3. Carcinome canalaire in situ (CCIS) de bas grade : DIN-1C
4. CCIS de grade intermédiaire : DIN-2
5. CCIS de haut grade : DIN-3

Les deux premières catégories correspondent à des lésions précancéreuses.

Le **carcinome canalaire in situ (CCIS)** n'est **pas une lésion précancéreuse** mais une lésion cancéreuse **préinvasive**. Aux Etats-Unis, les CCIS représentent près de 20% des cancers dépistés (1 cas de CCIS pour 1 300 mammographies de dépistage) (Ernster *et al.*, 2002).

Néoplasies mammaires intra-épithéliales de type lobulaire

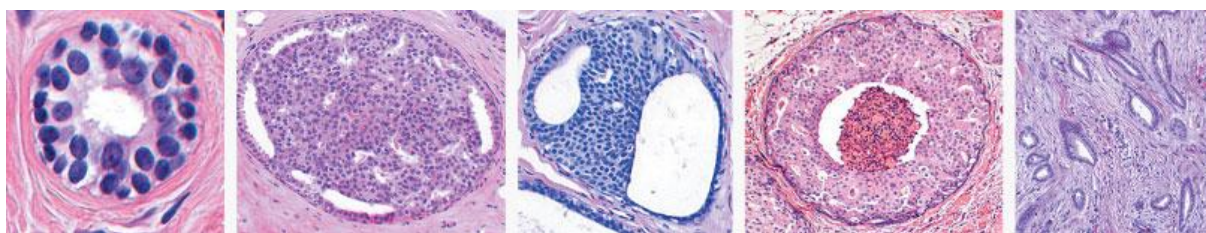
1. Hyperplasie lobulaire atypique (HLA) : LIN-1
2. HLA/CLIS : LIN-2
3. Carcinome lobulaire in situ (CLIS) : LIN-3 qui inclue trois différents types

Cette nouvelle terminologie a permis une meilleure prise en charge des lésions précancéreuses. Par exemple, pour les lésions lobulaires, les recommandations de l'Institut National du Cancer (INCa) publiées en novembre 2009 préconisent une simple surveillance dans les LIN 1 et LIN 2 alors que lorsque le résultat histologique conclue à un LIN 3, le traitement initial repose sur une exérèse chirurgicale.

Risque de transformation en cancer invasif des lésions prénéoplasiques du sein

Lorsqu'elle est laissée en place, une lésion prénéoplasique ou précancéreuse peut se transformer en carcinome pré-invasif ou carcinome in-situ qui lui-même peut se transformer en carcinome invasif (cf. figure 2).

L'introduction du concept d'unité terminale ductulolobulaire a engendré la notion de transformation tumorale - non obligatoire - passant par différentes étapes, comme pour le cancer du colon. Des cellules normales situées dans l'unité terminale ductulolobulaire (TDLU) se transformeraient en hyperplasie atypique, puis en carcinome canalaire in situ jusqu'au cancer invasif (figure 2 ci-dessous)



Lumière canalaire

Lésion bénigne proliférative

Hyperplasie atypique

Carcinome in situ

Carcinome invasif

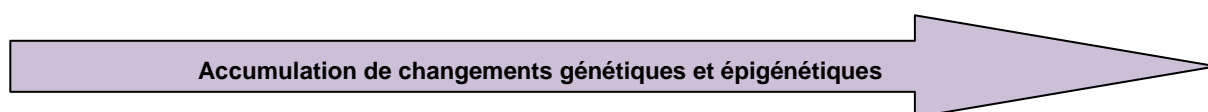


Figure 2 : Coupes anatomopathologiques illustrant la transformation de la glande mammaire normale jusqu'au cancer invasif (figure tirée de (Burstein *et al.*, 2004))

L'hypothèse de l'existence d'un continuum entre la glande mammaire normale et le cancer invasif du sein, même si elle peut paraître trop simpliste, est basée sur des arguments directs et indirects (Antoine *et al.*, 2010).

Des études historiques, depuis le début du 19^{ème} siècle, ont permis d'observer que des lésions bénignes étaient plus fréquemment retrouvées chez les patientes présentant des cancers du sein. Des études épidémiologiques plus récentes ont montré que les femmes ayant des antécédents de lésions bénignes du sein avaient un risque augmenté de cancer du sein.

Jusqu'au début des années 1990, les anatomopathologistes et les cliniciens se sont référés à des travaux anciens, notamment ceux de Dupont et Page (Dupont et Page, 1985) qui ont calculé le risque de survenue ultérieure de cancer du sein chez des patientes présentant des lésions bénignes souvent découvertes sur des lésions palpables avant l'ère du dépistage par mammographie.

L'histoire naturelle des carcinomes canaux in situ (CCIS) de bas grade a pu être déterminée par des études de suivi à long terme chez des femmes ayant eu une biopsie diagnostique sans autre thérapeutique, avant l'ère du dépistage de masse organisé. Après 10 ans de suivi, 14 à 60% de ces femmes ont eu un diagnostic de cancer invasif dans le même sein (Page *et al.*, 1995). La mise en évidence d'un tel risque d'invasion a d'ailleurs conduit à l'attitude actuelle de traiter activement ces lésions. L'histoire naturelle des CCIS de haut grade ou des CCIS palpable cliniquement n'est, en revanche, pas bien caractérisée car dans la plupart des cas, la tumeur est enlevée en totalité par chirurgie ce qui est également le cas des lésions d'hyperplasie canalaire atypique (HCA).

L'augmentation importante de la pratique de biopsies sur des images infra-cliniques et les données récentes apportées par l'étude moléculaire des lésions ont apporté un nouvel éclairage sur le risque de transformation de lésions hyperplasiques en cancer.

Lors de la transformation de lésions hyperplasiques en cancers in situ puis en cancer invasif, des déséquilibres sont observés à l'échelon chromosomique avec une perte de l'hétérozygotie dans plus de 70% des carcinomes in situ de haut grade comparé à près de 40% des cas d'hyperplasie atypique et 0% dans le tissu mammaire sain (Aubele *et al.*, 2000). Des marqueurs moléculaires de la transformation tumorale mammaire ont été identifiés. Le récepteur des estrogènes, exprimé par les cellules mammaires épithéliales normales est exprimé par plus de 70% des carcinomes canaux in situ (CCIS). Le protooncogène HER2/neu est surexprimé dans la moitié des CCIS mais pas dans les hyperplasies atypiques (Allred *et al.*, 1992).

Des travaux publiés au début des années 2000 sur les voies moléculaires impliquées ont montré que le cancer du sein n'était pas une pathologie unique mais plutôt un ensemble de différentes maladies survenant dans les mêmes structures anatomiques (TDLU). Ces techniques de biologie moléculaire ont également montré que les **lésions précancéreuses et préinvasives** étaient aussi **hétérogènes** que les cancers invasifs.

Différents modèles d'évolution selon le **grade histologique** (bas grade ou haut grade) et la présence ou l'absence de **récepteurs aux estrogènes** ont été proposés (cf. figures ci-dessous tirées de la publication de (Lopez-Garcia *et al.*, 2010)).

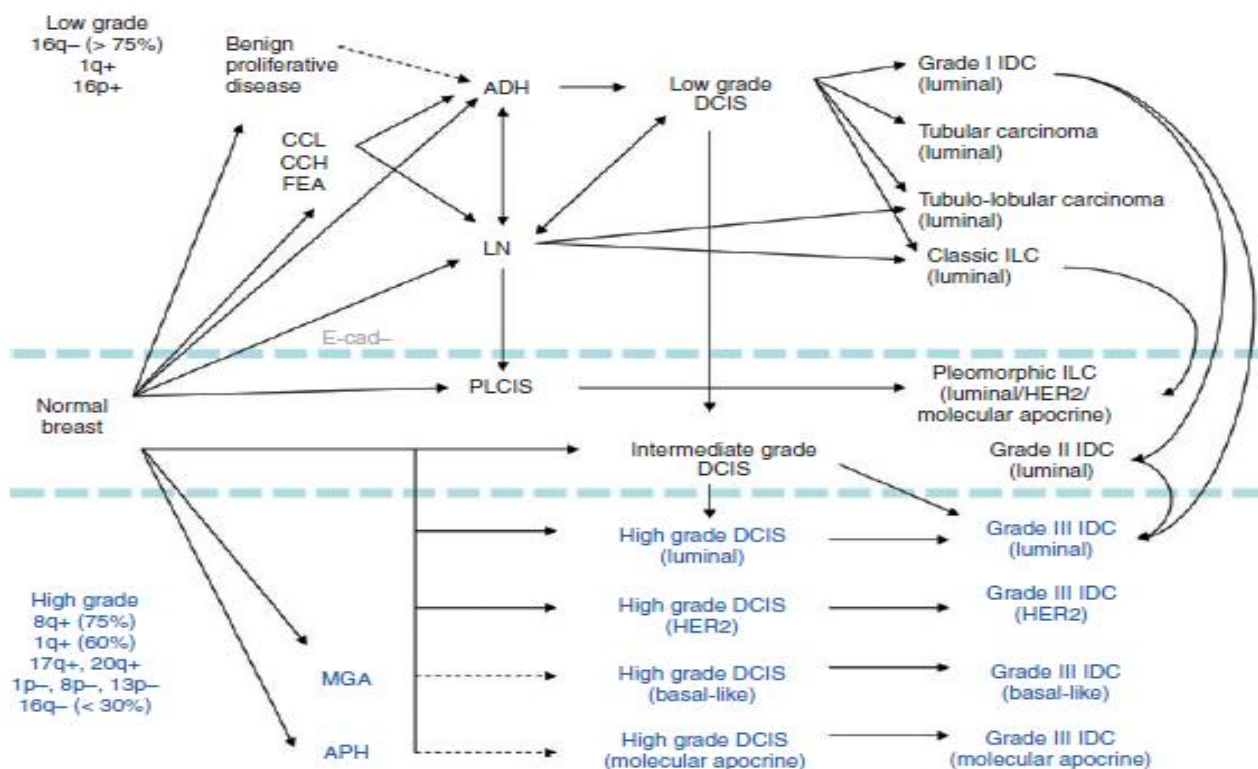


Figure 3. Low- and high-grade multistep model of breast cancer progression based on morphological, immunophenotypical and molecular features. Connectors drawn with continuous lines represent links between morphological entities which are demonstrated by morphological and/or molecular data. Connectors drawn with discontinuous lines represent hypothetical links yet to be demonstrated. ADH: atypical ductal hyperplasia; APH: atypical apocrine hyperplasia; CCH: columnar cell hyperplasia; CCL: columnar cell lesion; DCIS: ductal carcinoma *in situ*; E-cad: E-cadherin; FEA: flat epithelial atypia; IDC: invasive ductal carcinoma; ILC: invasive lobular carcinoma; LN: lobular neoplasia; MGA: microglandular adenosis; PLCIS: pleomorphic lobular carcinoma *in situ*.

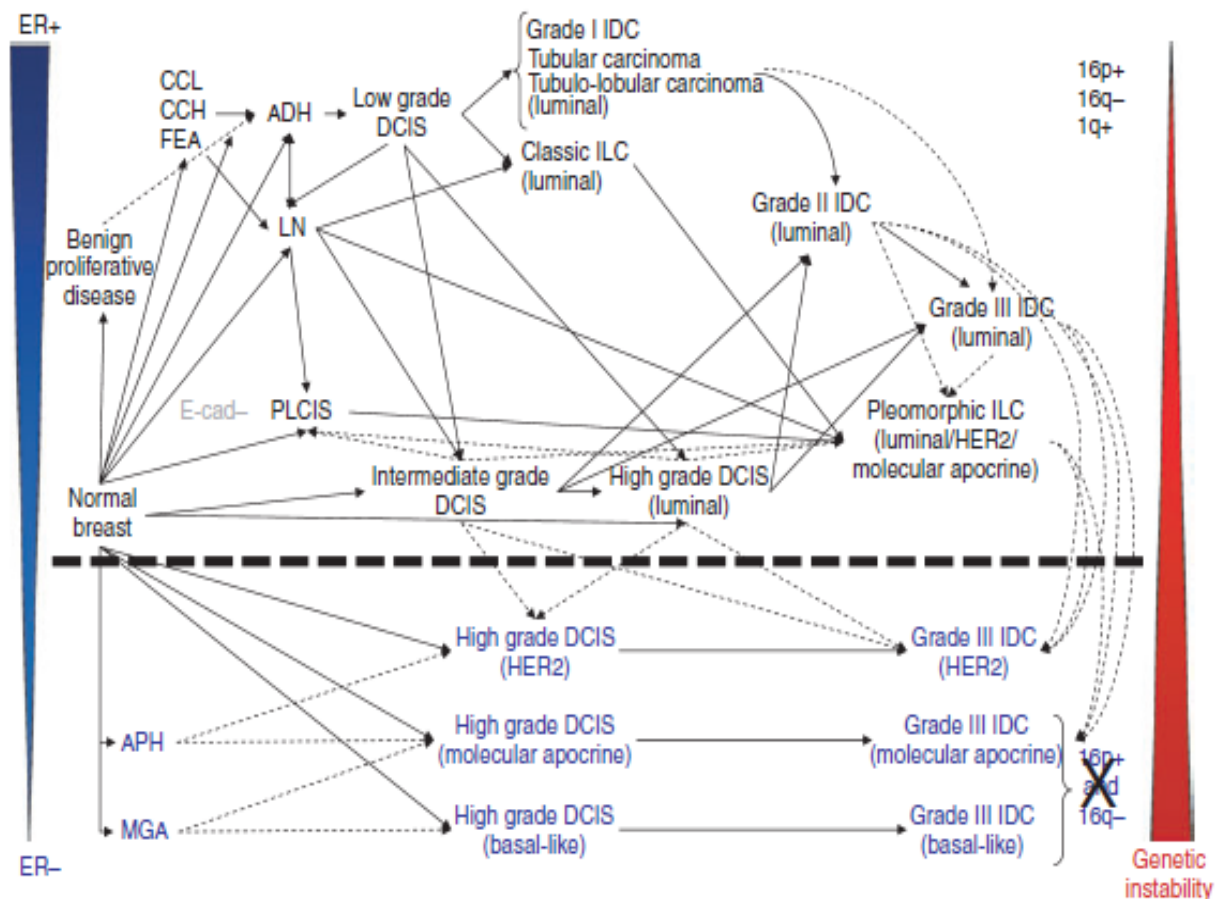


Figure 4. Revised multistep model of breast cancer evolution based on oestrogen receptor (ER)-status. Note that the two main pathways are defined by the expression of ER and ER-regulated genes. In this model, the ER-positive arm encompasses most of the precursor lesions and a range of invasive lesions which may progress from low to high grade due to the acquisition of genetic instability and accumulation of stochastic genetic events. The ER-negative arm includes ER-negative DCIS and invasive tumours; MGA and APH are proposed as non-obligate precursors of these lesions. ER and genetic instability bars on either side of the image represent the levels of ER expression and genetic instability, respectively. ADH: atypical ductal hyperplasia; APH: atypical apocrine hyperplasia; CCH: columnar cell hyperplasia; CCL: columnar cell lesion; DCIS: ductal carcinoma *in situ*; E-cad: E-cadherin; FEA: flat epithelial atypia; IDC: invasive ductal carcinoma; ILC: invasive lobular carcinoma; LN: lobular neoplasia; MGA: microglandular adenosis; PLCIS: pleomorphic lobular carcinoma *in situ*.

Par ailleurs, les données récentes montrent que les atypies épithéliales représentent non seulement un **facteur de risque de cancérisation secondaire** mais également un **marqueur de risque de cancer concomitant de voisinage** (de Mascarel *et al.*, 2007).

Conclusion

L'amélioration des connaissances apportées par l'immunohistochimie, la cytogénétique et la biologie moléculaire a permis d'améliorer la classification des lésions précancéreuses et la compréhension des liens de filiation entre atypies épithéliales et cancer du sein. Ces éléments ont permis d'affiner le diagnostic, de mieux déterminer le risque d'évolution en cancer invasif et donc d'optimiser la prise en charge des patientes.

Annexe 9 : Note de synthèse sur les cancers mammaires chez les rongeurs

Les rongeurs, rat et souris, ont été largement utilisés pour l'étude de cancérogénèse mammaire, dans des modèles de tumeurs spontanés ou induits. Le principal avantage du modèle Rat est que le carcinome ressemble plus au cancer du sein de l'Homme, le cancer mammaire chez la souris étant souvent d'origine virale et hormono-indépendants (Cardiff *et al.*, 2000; Gould 1995). Chez la souris CD-1, les lésions spontanées non néoplasiques et néoplasiques de la glande mammaire sont peu fréquentes (moins de 5% : (Gad 2007)).

Les différentes souches de rat utilisées classiquement ont montré des sensibilités différentes aux néoplasies induites chimiquement ou par radiations, Sprague-Dawley ou Wistar étant plus sensibles que le rat Fisher. Chez le rat Sprague-Dawley, l'incidence des tumeurs spontanées approche ou dépasse 50% dans les études chroniques (exemple, données historiques NTP, 2008). Il existe des souches présentant des sensibilités accrues à la cancérogénèse mammaire : c'est le cas de la souche Wistar-Furth très sensibles aux cancérogènes chimiques (Gould 1995).

Les facteurs de susceptibilité de la glande mammaire incluent, outre les facteurs génétiques, le degré de différenciation du tissu mammaire au moment de l'exposition, le statut physiologique et hormonal, et l'alimentation. La sensibilité est accrue chez la femelle pré-pubère pendant la période du développement : les canaux se terminent par des bourgeons terminaux (TEB) qui vont progressivement se différencier en bourgeons alvéolaires et en lobules alvéolaires. Le plus grand nombre de tumeurs a été induit chez le rat femelle SD entre 40-46 jours, période de différenciation la plus active des TEB, considérés comme la cible des cancérogènes chimiques (Russo et Russo, 1996). Les carcinomes mammaires ont été induits chez les rats par des agents chimiques ou physiques. Les carcinogènes chimiques les plus utilisés comprennent l'hydrocarbure aromatique polycyclique DMBA (diméthylbenzanthracène) ou les agents alkylants ENU (N-éthyl-N-nitrosourée) et le NMU (N-méthyl-N-nitrosourée). Après une seule dose de DMBA ou de NMU, un adénocarcinome se développe en 20 jours chez les rats jeunes. Ces cancers envahissent parfois les tissus environnants mais métastasent rarement à des sites distants (Gould 1995). Un protocole de cancérogénèse à court terme par injection de NMU à 21 jours a permis de décrire la chronologie d'induction des lésions pré-néoplasiques et néoplasiques mammaires (Thompson *et al.*, 1998), et de comparer ces lésions à celles observées chez l'Homme (Singh *et al.*, 2000). Ainsi, certaines similitudes ont été décrites entre lésions observées chez l'Homme et celles induites chez les Rongeurs, mais des différences existent aussi.

➤ Les similitudes incluent :

- Un développement selon un processus multi-étapes
- La majorité des cancers induits par DMBA ou NMU sont hormonodépendants
- Un schéma morphologique similaire : hyperplasies, hyperplasies intra-canaliaires considérées comme préneoplasiques, adénomes/ adénocarcinomes. Les carcinomes canaliaires *in situ* (CCIS) sont considérés comme une progression morphologique vers le carcinome mammaire à partir de lésions prolifératives intracaniaires.

Tableau XVII : Comparaison des lésions histopathologiques pré-neoplasiques et neoplasiques de la glande mammaire, induites chez le rat pré-pubère, avec celles décrites chez l'Homme (Singh *et al.*, 2000)

	Homme	Rat
Lésions bénignes	Fibroadénomes pouvant présenter des carcinomes <i>in situ</i> (CIS) et des hyperplasies canaliaires atypiques (HCA)	Pas d' HCA ni de CIS dans les fibroadénomes
Hyperplasies	Hyperplasies atypiques possibles	Pas d'hyperplasies atypiques
Carcinomes <i>in situ</i>	Carcinomes lobulaires <i>in situ</i> (CLIS) et carcinomes canaliaires <i>in situ</i> (CCIS) peuvent être observés. Plusieurs sous-types histologiques. Microcalcifications possibles.	Moins de diversité histologique. Des CCIS) sont observés, notamment cribriformes et papillaires. Pas de microcalcifications des CCIS.
Carcinomes invasifs	Elastose et calcifications possibles. Plusieurs types. Ganglions impliqués.	Pas d'élastose ou de microcalcifications Absence de carcinomes lobulaires, etc. Beaucoup moins diversifiés sur le plan histologique Pas de métastase dans les ganglions

➤ Les différences incluent :

- Morphologie de la plupart des tumeurs mammaires chez la souris ne ressemblent pas aux cancers du sein humains (Cardiff *et al.*, 2000) ;
- Chez le rat, une similitude des lésions histologiques a été décrite, avec moins de diversités que chez l'Homme : par exemple pas d'hyperplasies atypiques, ni de microcalcifications, ni de forme lobulaire de CIS ou de carcinome invasif lobulaire n'ont été décrites dans le modèle de cancérogénèse à court terme induit par le carcinogène NMU (Singh *et al.*, 2000)

Les ganglions régionaux ne sont pas souvent envahis chez le rat par comparaison à l'Homme.

Annexe 10 : Présentation des positions divergentes

Position exprimée par membre Mme Véronique Ezratty

Une proposition faite par un des membres du groupe de travail n'a pas été retenue par le groupe de travail. Cette proposition alternative consistait à établir une seule conclusion par effet intégrant à la fois les données humaines et animales en précisant respectivement pour chacune des deux catégories leur niveau de qualité ainsi que la plausibilité d'un mécanisme d'action, dans l'esprit des classifications des substances cancérigènes du CIRC et des agents cancérigènes, mutagènes et reprotoxiques CMR de l'Union Européenne. Cette proposition jugeait par ailleurs qu'il serait préférable d'éviter de parler d'effets avérés lorsqu'ils n'étaient observés que chez l'animal sans données humaines disponibles. En effet, séparer mais utiliser la même terminologie pour l'Homme et l'animal comme cela a été décidé par le GROUPE DE TRAVAIL pourrait induire un risque de mauvaise interprétation en cas d'extraction de certains éléments de la conclusion lors de la diffusion du rapport.

Annexe 11 : Synthèse des déclarations publiques d'intérêts des experts par rapport au champ de la saisine

Cette partie présente une synthèse des liens déclarés par les experts, dans le domaine sur lequel se porte la saisine, et précise d'une part comment ces liens ont été analysés et d'autre part la manière dont ils ont été gérés, eu égard à un risque potentiel de conflit d'intérêts.

Les déclarations publiques d'intérêts sont mises à jour par les experts à chaque changement de situation.

Au cours des expertises, les liens d'intérêts sont réexaminés au vu de l'ordre du jour.

RAPPEL DES RUBRIQUES DE LA DECLARATION PUBLIQUE D'INTERETS

IP-A	Interventions ponctuelles : autres
IP-AC	Interventions ponctuelles : activités de conseil
IP-CC	Interventions ponctuelles : conférences, colloques, actions de formation
IP-RE	Interventions ponctuelles : rapports d'expertise
IP-SC	Interventions ponctuelles : travaux scientifiques, essais, etc.
LD	Liens durables ou permanents (Contrat de travail, rémunération régulière ...)
PF	Participation financière dans le capital d'une entreprise
SR	Autres liens sans rémunération ponctuelle (Parents salariés dans des entreprises visées précédemment)
SR-A	Autres liens sans rémunération ponctuelle (Participation à conseils d'administration, scientifiques d'une firme, société ou organisme professionnel)
VB	Activités donnant lieu à un versement au budget d'un organisme

SYNTHESE DES LIENS DES MEMBRES DU CES, MENTIONNES DANS LA DECLARATION PUBLIC D'INTERET, EN RAPPORT AVEC LA THEMATIQUE DE LA SAISINE

NOM	Prénom <i>Rubriques de la DPI</i> Description de l'intérêt	Date de déclaration des intérêts
-----	--	----------------------------------

Analyse Anses :	<i>en cas de lien déclaré</i>	
BELZUNCES	<p>Luc</p> <p>LD</p> <p>Université d'Avignon : Enseignements (depuis 1998) (Vacations)</p> <p>Université d'Angers : Enseignements (depuis 2004) (Vacations)</p> <p>Université Aix-Marseille 3 : Enseignements (depuis 2000) (Vacations)</p> <p>Centre Agronomique de Chania, Crête : Enseignements (01/11/2005 au 10/11/2010) (Salaire)</p> <p>IP</p> <p>ADAPi (Association pour le Développement de l'Apiculture Provençale) : Conférences (2000-2006) (Rémunération personnelle)</p> <p>UNAF (Union nationale de l'apiculture française) : Conférences (2000-2006) (Rémunération personnelle) et consultance (2011) (Rémunération ponctuelle personnelle)</p> <p>ADARA : Conférences (2000-2006) (Rémunération personnelle)</p> <p>GIE Apiculture Pays de Loire : Formation toxicologie abeille (02/02/2011) (Rémunération personnelle)</p> <p>Organisations apicoles : Conférences régulières (Permanent) (Rémunération personnelle)</p> <p>VB</p> <p>Bayer : Effets de l'imidaclopride chez l'abeille donnant lieu à versement à l'INRA (50 % du budget du laboratoire où l'expert est Directeur de</p>	<p>10/02/2010</p> <p>28/01/2011</p>

<p>Analyse Anses :</p>	<p>recherche) (contrat clos en 2001)</p> <p>Aventis-BASF : Action des sécrétions de tournesol chez l'abeille donnant lieu à versement à l'INRA (50 % du budget du laboratoire) (2002)</p> <p>Aventis : Mode d'action de l'acétamipride donnant lieu à versement à l'INRA (50 % du budget du laboratoire) (2001-2003)</p> <p>SR</p> <p>BASF : enfant stagiaire (2007)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	
<p>BONVALLOT</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Nathalie</p> <p>Démission le 31 mars 2011</p> <p>LD</p> <p>EHESP : CDD (oct. 2008-oct. 2011)</p> <p>IP</p> <p>PBE + (performance Bretagne environnement), association d'entreprises bretonnes de tous secteurs : Journées PBE +, Toxicologie (avril 2008) (Aucune rémunération)</p> <p>EDF GDF : Formation EQRS (juin chaque année) (Aucune rémunération)</p> <p>SR</p> <p>OBERTHUR : Conjoint responsable Hygiène, sécurité et environnement</p> <p>/</p>	<p>09/02/2010 25/01/2011</p>
<p>BOURGEOIS</p>	<p>Damien</p> <p>IF</p>	<p>18/02/2010 24/01/2011</p>

<p>Analyse Anses :</p>	<p>Rhodia : Plan d'épargne en entreprise, quelques actions</p> <p>SR</p> <p>Maintenance Service Environnement : Conjoint ingénieur (depuis 01/12/2010)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	
<p>CASSIER-CHAUVAT</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Corinne</p> <p>LD</p> <p>CNRS/CEA : chercheur CNRS dans unité mixte CEA-CNRS (depuis 1983)</p> <p>SR</p> <p>CEA : Conjoint Chercheur Chef de laboratoire (depuis 1985)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	<p>26/02/2010 01/02/2011</p>
<p>EMPEREUR-BISSONNET</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Pascal</p> <p>SR</p> <p>Institut de recherche international SERVIER : Épouse Directeur Support Opérationnel (1990-2011)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	<p>01/02/2010 26/01/2011</p>
<p>ENRIQUEZ</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Brigitte</p> <p>Aucun lien déclaré</p> <p>/</p>	<p>01/02/2010 02/02/2011</p>
<p>GUENOT</p>	<p>Dominique</p> <p>IP</p>	<p>18/02/2010 02/02/2011</p>

<p>Analyse Anses :</p>	<p>2^{ème} édition de la manifestation « A votre santé ! » Le Mois de la santé et de la recherche médicale en Alsace : Intervention/débat suite à projection de film (1 journée en mars 2010) (Aucune rémunération)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	
<p>GUERBET</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Michel</p> <p>IP</p> <p>AFSSAPS : expert au sein du groupe réclinique (2006-2012) et au sein de la commission d'AMM des médicaments (2010-2013) (Aucune rémunération)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	<p>24/02/2010</p> <p>02/02/2011</p>
<p>HUYNH</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Cong Khan</p> <p>Aucun lien déclaré</p> <p>/</p>	<p>19/01/2010</p> <p>28/01/2011</p>
<p>KRISHNAN</p>	<p>Kannan</p> <p>IP</p> <p>Regulatory checkbook : Invited speaker and panelist, Naphthalene: State of the Science Symposium and Workshop (3 jours en 2006) (Vacation, frais de déplacement)</p> <p>VB</p> <p>ExxonMobil conjointement avec le conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada : Subvention de recherche pour « An integrated fugacity-pharmacokinetic model » donnant lieu à versement à l'Université de Montréal, Trent University et Université du Québec à Montréal (< 10 % du budget) (2007-2010)</p>	<p>31/03/2009</p> <p>02/03/2011</p>

Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêts	
LAFON	Dominique <i>LD</i> Archives des maladies professionnelles : droits d'auteur (depuis 1995) Dassault Falcon service : Médecin du travail en CDI (depuis 1995) <i>IP</i> AFSSA : CES MCDA (2000-2006) (Vacations) AFSSAPS : Commission cosmétologie (2010)	15/02/2010 25/01/2011
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêts	
LAGADIC-GOSSMANN	Dominique Aucun lien déclaré	25/02/2010 30/01/2011
Analyse Anses :	/	
LAUDET	Annie Aucun lien déclaré	23/02/2010 17/03/2011
Analyse Anses :	/	
MENETRIER	Florence <i>IP</i> ANR : Appel à projets Santé-environnement/santé-travail (juin 2006-août 2006) (Aucune rémunération)	23/02/2010 26/01/2011
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêts	
PRAT	Odette Aucun lien déclaré	27/01/2010 30/01/2011

Analyse Anses :	/	
SCHROEDER	<p>Henri</p> <p>IF</p> <p>Air France, Rexel, BNP : actions</p> <p>Fonds de placement LCL Protection : Produits financiers</p> <p>VB</p> <p>Industries agro-alimentaires : Contrat sur aliments fonctionnels donnant lieu à versement à l'université Henri Poincaré (50 % du laboratoire où l'expert est Enseignant-chercheur, responsable des études réalisées) (2001-2006)</p> <p>ANSES : Veille bibliographique (auteur des notes de veille) donnant lieu à versement à l'université Henri Poincaré (15 % du budget du laboratoire) (2009-2011)</p>	<p>27/02/2010</p> <p>28/01/2011</p>
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêts	
SECRETAN-LAUBY	<p>Béatrice</p> <p>LD</p> <p>CIRC : Salariée (depuis 2001)</p> <p>IP</p> <p>Encyclopedia of Cancer (Springer Verlag) : Article sur "UV radiation (déc. 2007 à fév. 2008) (Aucune rémunération)</p> <p>AFTIM (Association française des techniciens et ingénieurs de sécurité et des médecins du travail) : Journée AFTIM-ADHYS, Paris (2004) (Aucune rémunération)</p> <p>ADHYS (Association pour le développement de</p>	<p>02/03/2010</p> <p>03/02/2011</p>

<p>Analyse Anses :</p>	<p>l'hygiène et de la sécurité dans les établissements de recherche ou d'enseignement supérieur) : 22^{ème} journées de l'ADHYS (2005) (Aucune rémunération)</p> <p>BTP : 28^{èmes} journées Nationales du BTP (2005) (Aucune rémunération)</p> <p>DRASS : Journée d'échange de pratiques professionnelles sur les CMR (2005) (Aucune rémunération)</p> <p>TSR (Télévision Suisse romande) : Emission "A bon entendeur" sur le benzène dans les boissons de table (2006) (Aucune rémunération)</p> <p>AFSSET : Substitution: un enjeu pour les CMR (2007) (Aucune rémunération)</p> <p>Université de Grenoble : Journée FMC Quoi de neuf en Cancérologie (2008) (Aucune rémunération)</p> <p>Université Claude Bernard Lyon 1^{er} : Journée de formation de la Société de SMST Lyon: Les cancers professionnels (2010) (Aucune rémunération)</p> <p>Université de Grenoble : Enseignement (1 journée en 2006, 2007, 2010) (Aucune rémunération)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	
<p>TISSOT</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Sylvie</p> <p><i>Démission le 14 janvier 2011</i></p> <p>Aucun lien déclaré</p> <p>/</p>	<p>05/02/2010</p> <p>27/01/2011</p>

SYNTHESE DES DECLARATIONS PUBLIQUES D'INTERETS DES MEMBRES DU GT PAR RAPPORT AU CHAMP DE LA SAISINE

NOM	Prénom <i>Rubriques de la DPI</i> Description de l'intérêt <i>en cas de lien déclaré</i>	Date de déclaration des intérêts
ANTIGNAC Analyse Anses :	Jean-Philippe <i>IP</i> Rapport d'expertise INSERM sur les substances reprotoxiques (depuis 2009) (Rémunération personnelle) Pas de risque de conflit d'intérêts	22/02/2010 10/03/2011
BELZUNCES	Luc (Membre du CES « Evaluation des risques liés aux substances chimiques) <i>LD</i> Université d'Avignon : Enseignements (depuis 1998) (Vacations) Université d'Angers : Enseignements (depuis 2004) (Vacations) Université Aix-Marseille 3 : Enseignements (depuis 2000) (Vacations) Centre Agronomique de Chania, Crête : Enseignements (01/11/2005 au 10/11/2010) (Salaire) <i>IP</i> ADAPi (Association pour le Développement de l'Apiculture Provençale) : Conférences (2000-2006) (Rémunération personnelle) UNAF (Union nationale de l'apiculture française) :	10/02/2010 28/01/2011

<p>Analyse Anses :</p>	<p>Conférences (2000-2006) (Rémunération personnelle) et consultance (2011) (Rémunération ponctuelle personnelle)</p> <p>ADARA : Conférences (2000-2006) (Rémunération personnelle)</p> <p>GIE Apiculture Pays de Loire : Formation toxicologie abeille (02/02/2011) (Rémunération personnelle)</p> <p>Organisations apicoles : Conférences régulières (Permanent) (Rémunération personnelle)</p> <p>VB</p> <p>Bayer : Effets de l'imidaclopride chez l'abeille donnant lieu à versement à l'INRA (50 % du budget du laboratoire où l'expert est Directeur de recherche) (contrat clos en 2001)</p> <p>Aventis-BASF : Action des sécrétions de tournesol chez l'abeille donnant lieu à versement à l'INRA (50 % du budget du laboratoire) (2002)</p> <p>Aventis : Mode d'action de l'acétamipride donnant lieu à versement à l'INRA (50 % du budget du laboratoire) (2001-2003)</p> <p>SR</p> <p>BASF : enfant stagiaire (2007)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	
<p>BENAHMED</p>	<p>Mohamed</p> <p>IP</p> <p>Galderma : Travaux d'expertise (décembre 2009)</p> <p>BASF-Galderma : Rapport d'expertise (janvier 2010)</p>	<p>04/03/2010</p>

<p>Analyse Anses :</p>	<p>BASF-Galderma : Formation sur l'utilité des nouveaux marqueurs (En cours) (Rémunération personnelle)</p> <p>ECETOC : Workshop (Rémunération personnelle)</p> <p>VB</p> <p>BAYER, GALDERMA : Contrats de collaboration, conventions sur perturbateurs endocriniens donnant lieu à versement à l'INSERM (5 % du budget)</p> <p>BASF, BAYER : Contrats CIFRE sur perturbateurs hormonaux, reprotoxicité donnant lieu à versement à l'INSERM (5 % du budget)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	
<p>BERTRAND</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Nicolas</p> <p>LD</p> <p>Salarié de l'INRS (2007-2011)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	<p>17/03/2010</p> <p>09/03/2011</p>
<p>BLANCHARD</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Olivier</p> <p>LD</p> <p>Salarié de l'INERIS (jusqu'en 2009)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	<p>22/02/2010</p> <p>28/01/2011</p>
<p>CLAUW</p>	<p>Martine</p> <p>LD</p> <p>Sanofi-Aventis : Membre extérieur du comité</p>	<p>16/03/2010</p> <p>02/02/2011</p>

<p>Analyse Anses :</p>	<p>d'éthique pour la protection des animaux de laboratoire, Toulouse (depuis 2009) (Aucune rémunération)</p> <p>IP</p> <p>Nutreco (The Netherlands) : Convention de recherches sur l'impact digestif du stress thermique (depuis 2010)</p> <p>Royal Canin, SAS (Aymargues, France) : Convention de recherches sur Gériatrie canine et stress (depuis 2010)</p> <p>VB</p> <p>Taxe d'apprentissage de Pierre Fabre médicaments et Sanofi-Aventis au bénéfice de l'École vétérinaire de Toulouse (0,01 % du budget)</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	
<p>CRAVEDI</p>	<p>Jean-Pierre</p> <p>IF</p> <p>Total, Arcelor Mittal : Actions</p> <p>LD</p> <p>EFSA : Expertise (panel Contaminants) (depuis 2003) (Rémunération personnelle)</p> <p>IP</p> <p>DANONE : Analyse d'échantillons d'eau (depuis octobre 2010) donnant lieu à rémunération à l'organisme d'appartenance (INRA)</p> <p>L'OREAL : Bioaccumulation chez le poisson (2008-2009) (Vacations)</p> <p>DANONE : Détection des perturbateurs endocriniens dans l'eau (2009-201) (Vacations)</p>	<p>19/11/2009</p> <p>18/04/2011</p>

	<p>VB</p> <p>Pierre FABRE : Bourse de thèse donnant lieu à versement à l'INRA (5 % du budget)</p> <p>DANONE : Analyse de xénobiotiques dans l'eau donnant lieu à versement à l'INRA (1 % du budget)</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	
DUPUPET	<p>Jean-Luc</p> <p><i>Démission le 22 octobre 2010</i></p> <p>LD</p> <p>CCMSA : Médecin conseiller technique national</p> <p>Analyse Anses : /</p>	31/03/2010
ELEFANT	<p>Élisabeth</p> <p>Aucun lien déclaré</p> <p>Analyse Anses : /</p>	11/03/2010
EMOND	<p>Claude</p> <p>IP</p> <p>Santé Canada : Revue expert (2006-2008) (Rémunération personnelle)</p> <p>US EPA USA : Développement d'un modèle PBPK sur les PBDE (2007) et travaux de consultation pour la réévaluation des niveaux d'exposition au dioxine (2009) (rémunération personnelle)</p> <p>Analyse Anses : Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	24/02/2010 14/07/2011
EUSTACHE	<p>Florence</p> <p>Aucun lien déclaré</p>	08/03/2010

Analyse Anses :	/	
EZRATTY	<p>Véronique</p> <p>IF</p> <p>EDF, Gaz de France-Suez : Actions</p> <p>LD</p> <p>EDF : Salarié (depuis 1998)</p> <p>IP</p> <p>RSEIN : Analyse d'articles scientifiques (depuis 2007) (Rémunération personnelle)</p> <p>OMS : Rédaction de trois chapitres pour les guidelines QAI (Septembre 2008) (Rémunération personnelle)</p>	<p>10/02/2010</p> <p>29/03/2011</p>
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêts	
LABADIE	<p>Pierre</p> <p>Démission le 12 novembre 2010</p> <p>IP</p> <p>ONEMA : Comité de suivi scientifique du plan national d'actions sur les PCB (Aucune rémunération) (Décembre 2009)</p>	<p>22/02/2010</p>
Analyse Anses :	/	
LE MAGUERESSE-BATTISTONI	<p>Brigitte</p> <p>Aucun lien déclaré</p>	<p>26/02/2010</p> <p>09/03/2011</p>

Analyse Anses :	/	
LEMARCHAND	Frédéric Aucun lien déclaré	01/02/2010 15/03/2011
Analyse Anses :	/	
MANDIN	Corinne LD Salariée du CSTB IP Vacations à l'Institut Supérieur de la Santé et des Bioproduits d'Angers (1 fois par an) (Rémunération personnelle) Analyse d'articles scientifiques pour le bulletin de veille du réseau RSEIN de l'INERIS (1 à 2 fois par an) (Rémunération personnelle) SR Conjoint Directeur des ventes chez Taiki Europe	15/06/2009 11/03/2010 08/03/2011
Analyse Anses :	Pas de risque de conflit d'intérêts	
MINIER	Christophe Aucun lien déclaré	10/03/2010 09/05 /2011
Analyse Anses :	/	
MULTIGNER	Luc Aucun lien déclaré	03/03/2010
Analyse Anses :	/	

<p>PASCUSSI</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Jean-Marc</p> <p><i>Démission le 11 janvier 2011</i></p> <p>IP</p> <p>SERVIER : Cours sur les xénorecepteurs CAR et PXR (Rémunération personnelle) (Mai 2009)</p> <p>VB</p> <p>SERVIER : Bourse CIFRE pour une thèse (2006-2009) donnant lieu à versement à l'organisme d'appartenance (ONSERM) (3 % du budget)</p> <p>/</p>	<p>22/01/2010</p>
<p>SANCHEZ</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Wilfried</p> <p>LD</p> <p>Salarié de l'INERIS</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	<p>04/03/2010</p>
<p>STEENHOUT</p>	<p>Anne</p> <p>LD</p> <p>ULB (Université Libre de Bruxelles) : chef de service et directeur de recherche (depuis 1990)</p> <p>IP</p> <p>US Environmental Protection Agency : travaux scientifiques donnant lieu à versement à l'organisme d'appartenance (ULB)</p> <p>Conseil Supérieur d'Hygiène de Belgique : Rapport d'expertise sur le dichlorométhane donnant lieu à versement à l'organisme d'appartenance (2000)</p> <p>Commission européenne : Participation, intervenant à des réunions, GT, comités donnant lieu à versement à l'organisme d'appartenance (depuis</p>	<p>25/02/2010</p> <p>07/03/2011</p>

<p>Analyse Anses :</p>	<p>2002)</p> <p>CSTC (Centre Scientifique et Technique de la Construction)/BATIBOUW (Salon international du bâtiment, de la rénovation et de l'aménagement intérieur) : Intervenant GT et conférences (Aucune rémunération) (2003, 2004-2005)</p> <p>ECETOC (the European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals) : Evaluation de projets donnant lieu à versement à l'organisme d'appartenance (2002)</p> <p>Écoles d'architecture : conférencier, formations donnant lieu à versement à l'organisme d'appartenance (2001-2005)</p> <p>Ministère Communauté française de Belgique : conférencier, formations donnant lieu à versement à l'organisme d'appartenance (2006)</p> <p>Sociétés scientifiques : Conférencier (Aucune rémunération)</p> <p>VB</p> <p>Divers ministères/ région de Bruxelles, Communauté française : recherche scientifique en environnement et Santé donnant lieu à versement à l'organisme d'appartenance</p> <p>LRI (Long-range research initiative)-CEFIC (European Chemical Industry Council) : recherche scientifique, exposition donnant lieu à versement à l'organisme d'appartenance</p> <p>Pas de risque de conflit d'intérêts</p>	
<p>TAKSER</p> <p>Analyse Anses :</p>	<p>Larissa</p> <p>Aucun lien déclaré</p> <p>/</p>	<p>02/02/2010</p> <p>06/05/2011</p>

THONNEAU	Patrick	02/03/2010
	Aucun lien déclaré	28/05/2011
Analyse Anses :	/	
VIGUIE	Catherine	18/02/2010
	Aucun lien déclaré	24/06/2011
Analyse Anses :	/	

Notes

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Connaissances relatives aux usages du bisphénol A

Rapport d'étude

Septembre 2011

Édition scientifique

Usages du bisphénol A

Saisine n°2010-SA-0197

RAPPORT d'étude

**Comité d'Experts Spécialisés
« Évaluation des risques liés aux substances chimiques »**

Groupe de Travail « Perturbateurs endocriniens et reprotoxiques de catégorie 3 »

Mots clés

Perturbateur endocrinien, Bisphénol A, filières, usages.

Présentation des intervenants

GRUPE DE TRAVAIL « PERTURBATEURS ENDOCRINIENS ET REPROTOXIQUES DE CATEGORIE 3 »

Président

EMOND Claude –

Vice-président

BELZUNCES Luc – INRA

Membres

ANTIGNAC Jean-Philippe – ONIRIS, LABERCA

BERTRAND Nicolas – INRS

BLANCHARD Olivier – EHESP

CLAUW Martine – INRA

CRAVEDI Jean-Pierre – INRA

ELEFANT Elisabeth – Centre de référence sur les Agents tératogènes hôpital Trousseau APHP Paris

EUSTACHE Florence - CECOS

EZRATTY Véronique – EDF, Médecin de l'Institut Gustave Roussy (Villejuif) et d'un service de prévention et de dépistage des tumeurs de la ville de Paris

LE MAGUERESSE-BATTISTONI Brigitte – INSERM

LEMARCHAND Frédéric – Université de Caen

MANDIN Corinne – CSTB

MINIER Christophe – Université du Havre

MULTIGNER Luc – INSERM

SANCHEZ Wilfried – INERIS

STEENHOUT Anne – Université libre de Bruxelles

TAKSER Larissa – Université de Sherbrooke, Canada

THONNEAU Patrick – INSERM

VIGUIE Catherine – INRA

RELECTURE DU RAPPORT PAR LE COMITE D'EXPERTS SPECIALISES

Ce rapport a été soumis pour commentaires au(x) CES :

« Évaluation des risques liés aux substances chimiques » – 30 juin 2011

Président

M. Michel GUERBET – Professeur des Universités en toxicologie

Membres

BELZUNCES Luc – Directeur de Recherche - Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UMR 406 A&E, INRA

BONVALLOT Nathalie – Enseignant chercheur en toxicologie – EHESP Sorbonne Paris Cité, IRSET, INSERM. Démission en mars 2011

BOURGEOIS Damien – Chargé de Recherche – Institut de Chimie Séparative de Marcoule - CNRS

CASSIER-CHAUVAT Corinne – Directrice de Recherche DR2 CNRS – iBiTecS/SBiGeM/LBI, unité mixte CEA-CNRS URA 2096

EMPEREUR-BISSONNET Pascal Médecin, responsable de l'unité « Populations, Risques, Territoires » - Département Santé Environnement, InVS

ENRIQUEZ Brigitte – Enseignant chercheur (Pr) Pharmacie – toxicologie / Responsable de la pharmacie centrale – Unité de Pharmacie Toxicologie, ENVA

GUENOT Dominique – Chargée de recherche - CNRS

GUERBET Michel – Professeur des Universités en toxicologie – Laboratoire de toxicologie, UFR Médecine Pharmacie de Rouen.

HUYNH Cong Khanh – Docteur es Sciences - Ingénieur chimiste – Institut universitaire Roman de Santé au Travail

KRISHNAN Kannan – Professeur, enseignant chercheur - Santé publique et Toxicologie - Département de Santé environnementale et de santé au travail, Université de Montréal

LAFON Dominique – Médecin toxicologue, pilote de la thématique reproduction et travail– INRS

LAGADIC-GOSSMANN Dominique – Directrice de Recherche CNRS – EA 4427 SeRAIC / IRSET, Université Rennes 1

LAUDET Annie - Pharmacien toxicologue retraitée – INRS

MÉNÉTRIER Florence – Responsable de l'unité Prositon / Pharmacien – DSV/Prositon, CEA

PRAT Odette - Chercheur Biologiste Toxicologue / Responsable Toxicogénomique - Institut de Biologie Environnementale et de Biotechnologie / DSV/ CEA

SCHROEDER Henri – Enseignant chercheur / Pharmacien biologiste – URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Nancy université

SECRETAN-LAUBY Béatrice – Scientifique pour monographies – groupe IMO, CIRC/ OMS

TISSOT Sylvie – Vétérinaire Toxicologue/Responsable de l'unité ETSC – INERIS. Démission en mars 2011

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Sophie ROBERT – Adjointe au Chef du département Observatoires et Bases de Données

Mlle Lauranne VERINES - Chargée de projet scientifique – Substitution CMR et substances

Contribution scientifique

Mme Céline DUBOIS – Chef de projet scientifique – Substitution CMR et substances

Mlle Carole LEROUX - Chargée de projet scientifique – Unité Evaluation des risques liés à l'air

Secrétariat administratif

Mme Séverine BOIX

Mme Véronique QUESNEL

SOMMAIRE

Abréviations	8
Liste des tableaux	10
Liste des figures	10
Liste des annexes	10
1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine.....	11
1.1 Contexte.....	11
1.2 Objet de la saisine.....	12
1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation.....	12
2 Présentation de la substance	14
2.1 Identité de la substance.....	14
2.2 Propriétés physico-chimiques du bisphénolA.....	15
2.3 Synthèse chimique du BPA.....	16
3 Réglementation	18
4 Résultats de l'étude de filières.....	22
4.1 Production, distribution et importation du BPA.....	22
4.1.1 Informations issues de la bibliographie.....	22
4.1.2 Tonnage de la substance : informations issues de l'enquête de filières	23
4.2 Identification des secteurs d'activité.....	24
4.3 Usages identifiés dans la bibliographie	31
4.3.1 Les polymères.....	32
4.3.2 Les résines.....	37
4.3.3 Bisphénol A éthoxylé	42
4.3.4 Les polyamides	42
4.3.5 Les retardateurs de flamme.....	42
4.3.6 Les papiers thermiques.....	43
4.3.7 L'industrie automobile	44
4.3.8 Industrie des peintures.....	44

4.3.9	Autres utilisations	45
4.3.10	Récapitulatif des usages et des articles et préparations susceptibles de contenir du BPA	46
4.4	Usages identifiés via les industriels	49
4.4.1	Les orthèses	50
4.4.2	Les câbles	50
4.4.3	Les esters.....	50
4.4.4	Les résines.....	51
4.4.5	Les dérivés du bisphénol A.....	51
5	Résultats de l'extraction d'autres bases de données	53
5.1	Extraction de la base nationale des produits et compositions (BNPC).....	53
5.2	Extraction de la base de données SEPIA	54
6	Conclusion	56
7	Références bibliographiques	57
ANNEXES	60

Abréviations

Afssa : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Afssaps : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

AMM : Autorisation de mise sur le marché

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire

APE : Activité principale exercée

BNPC : Base nationale des produits et compositions

CSSC : Comité scientifique européen pour la sécurité des consommateurs

CSST : Commission de la santé et de la sécurité du travail (Québec)

ECHA : Agence européenne des produits chimiques

EINECS : European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances

FDS : Fiche de données de sécurité

GT : Groupe de travail

HPV : High Production Volume

HSDB : Hazardous Substances Data Bank

Ineris : Institut national de l'environnement industriel et des risques

INRS : Institut national de recherche et de sécurité

INSEE : Institut national de la statistique et des études économiques

InVS : Institut de veille sanitaire

IPCS : International Programme on Chemical Safety

JO : Journal officiel

Koc : Coefficient d'adsorption du sol

Kow : Coefficient de partage octanol-eau

LIE : Limite inférieure d'explosivité

LSE : Limite supérieure d'explosivité

MEDDTL : Ministère de l'écologie, du développement durable, des transports et du logement

NAF : Nomenclature d'activités françaises

OCDE : Organisation de coopération et de développement économiques

PVC : Polychlorure de vinyle

Reach : Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals

UE : Union Européenne

US EPA : U.S Environmental Protection Agency

Liste des tableaux

Tableau 1 : Identité de la substance.....	14
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du BPA	15
Tableau 3 : Quantités annuelles de bisphénol A mises en œuvre en France déclarées lors de l'enquête en ligne.....	23
Tableau 4 : Quantité de bisphénol A fabriquées, importées distribuées en France déclarées dans l'enquête en ligne.....	24
Tableau 5 : Comparaison des secteurs d'activité concernés par le BPA, identifiés dans la bibliographie ainsi que par l'enquête de filières.....	25
Tableau 6 : Usages identifiés dans la bibliographie	31
Tableau 7 : Applications des polycarbonates (Plastic Europe 2007)	34
Tableau 8 : Applications des résines époxydes (Plastics Europe, 2007).....	39
Tableau 9 : Récapitulatif des articles et préparations susceptibles de contenir du BPA	46
Tableau 10 : Résultats de l'extraction de la BNPC (février 2011) –préparations utilisées par la population générale	53
Tableau 11 : Résultats de l'extraction de la BNPC (février 2011) – préparations utilisées par la population professionnelle.....	53
Tableau 12 : Résultats de l'extraction de la base SEPIA (octobre 2010)	54

Liste des figures

Figure 1 : Réaction de synthèse du BPA.....	16
Figure 2 : Production et consommation européennes de polycarbonate par pays (Fédération de la Plasturgie, 2011).....	32
Figure 3 : Réaction de formation de polycarbonate (2007)	32
Figure 4 : Domaines d'utilisation des polycarbonates (Fédération de la Plasturgie, 2011)	33
Figure 5 : Synthèse des résines à base de bisphénol A, (Techniques de l'ingénieur*, 1992)	38
Figure 6 : Domaines d'utilisation des résines époxydes (Plastics Europe, 2007).....	39

Liste des annexes

Annexe 1 : Lettres de saisines	61
--------------------------------------	----

1 Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

Le bisphénol A ou BPA (4,4'-dihydroxy-2,2-diphénylpropane, N°CAS : 80-05-7) est un produit chimique phénolique utilisé depuis plus de 50 ans, principalement comme monomère dans la production de plastiques en polycarbonate et de résines époxydes. Il est également utilisé comme composant des résines polyester, polysulfone et polyacrylate et intervient dans la synthèse des ignifugeants. Les polycarbonates entrent dans la composition d'un très grand nombre d'objets courants (CD, lunettes, bouteilles plastiques, biberons), alors que les résines époxydes sont principalement utilisées pour réaliser le revêtement des boîtes de conserves ou des amalgames dentaires. Le BPA est aussi utilisé comme révélateur dans les papiers thermiques.

En 2006, la production mondiale de BPA s'élevait à environ 3,8 millions de tonnes, utilisées aux deux tiers pour la fabrication du polycarbonate et pour un tiers pour celle de résines.

Le BPA a été listé en tant que perturbateur endocrinien de catégorie 1 (CE, 2002; DHI, 2007).

De nombreuses études ont été consacrées à la caractérisation de la toxicité et des effets endocriniens du BPA chez l'animal. Certaines de ces études ont été réalisées en respectant les lignes directrices réglementaires de l'OCDE, s'agissant notamment d'un nombre suffisant d'animaux et de doses testés. D'autres travaux issus d'instituts de recherche et de laboratoires universitaires ont par ailleurs été conduits, souvent basés sur un nombre d'animaux et de doses plus restreint. Les résultats et conclusions de ces différentes études ne sont toutefois pas consensuels, qu'il s'agisse de la nature des effets observés, du moment de leur survenue ou encore des niveaux de doses auxquels ils se sont produits.

Ainsi, le lien potentiel entre l'exposition au BPA et certaines pathologies telles que cancers de la prostate ou du sein, obésité, diabète, dysfonctionnements thyroïdiens, ou encore troubles du comportement et de la reproduction, reste un sujet discuté.

Le BPA fait aujourd'hui, et déjà depuis quelques années, l'objet d'une attention particulière au niveau international. Au vu des inquiétudes soulevées par cette substance, le Canada est devenu, le 11 mars 2010, le premier pays dans le monde à interdire les biberons contenant du BPA. Aux États-Unis, plusieurs États ont interdit le BPA dans les biberons et les six principaux fabricants de biberons ont déjà cessé toute commercialisation des articles contenant du BPA. En France, à l'issue de sa récente expertise de 2010, l'Afssa (aujourd'hui Anses) avait également reporté des « signaux d'alerte » identifiés dans la littérature. La loi « tendant à suspendre la commercialisation de biberons produits à base de bisphénol A » a été publiée au journal officiel le 1er juillet 2010.

1.2 Objet de la saisine

Par courrier du 4 juin 2009, la direction générale de la santé (DGS) a saisi l'Agence en vue de demander une expertise sur les risques sanitaires pour le consommateur liés à des substances reprotoxiques et/ou perturbateurs endocriniens présents dans des produits et/ou articles mis sur le marché, dont le bisphénol A (BPA).

Par courrier daté du 18 février 2010, l'Anses a été saisie par la DGPR afin d'évaluer les risques sanitaires résultant d'une exposition de l'Homme au BPA *via* l'environnement. Ainsi, l'Anses devra :

- faire une synthèse des effets sur la santé humaine,
- identifier les usages conduisant à une exposition humaine,
- caractériser les expositions,
- évaluer la faisabilité et la pertinence de conduire une évaluation des risques sanitaires.

L'Anses est également chargée :

- de dresser un bilan des recherches en cours sur le BPA et ses substituts,
- d'identifier ces substituts et les éventuels dangers associés,
- de formuler des recommandations quant à la prise en compte du bisphénol A dans le cadre du règlement (CE) n° 1907/2006 REACH.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a confié au Comité d'Experts Spécialisés (CES) « Évaluation des risques liés aux substances chimiques » l'instruction de ces saisines. Ce dernier a mandaté le groupe de travail « Perturbateurs endocriniens et reprotoxiques de catégorie 3 » pour la réalisation des travaux d'expertise.

Les travaux d'expertise du groupe de travail sur les effets sanitaires ont été soumis régulièrement au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES.

Ces travaux sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

Concernant toutefois la deuxième partie de cette saisine, à savoir l'identification des usages, ces travaux étant « hors évaluation des risques », le rapport d'étude sur l'étude de filières a été soumis pour analyse critique aux membres du groupe de travail et pour information au CES chimie.

L'étude de filières a été réalisée par un prestataire extérieur (Société Néodyme) choisi par voie d'appel d'offres public (Marché Anses (ex-Afsset) n°10_03 : Etude de la filière des substances reprotoxiques et perturbatrices endocriniennes (France et Europe).

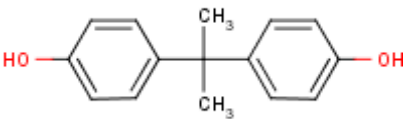
Cette étude s'est déroulée selon trois étapes successives :

1. Réalisation d'une étude bibliographique (couvrant une période de 10 ans, i.e. de 2000 à 2010) par substance afin d'identifier les différentes utilisations potentielles des substances et en déduire ainsi les secteurs d'activité concernés.
2. Etablissement de la liste des entreprises faisant partie des secteurs d'activité identifiés au préalable grâce aux annuaires professionnels.
3. Envoi d'un questionnaire regroupant l'ensemble des informations nécessaires pour la suite de l'étude. Ce questionnaire a été administré par voie électronique. Chaque destinataire a été identifié grâce aux annuaires professionnels.

2 Présentation de la substance

2.1 Identité de la substance

Tableau 1 : Identité de la substance

IDENTIFICATION DE LA SUBSTANCE	
Numéro CAS	80-05-7
Numéro CE (EINECS)	201-245-8
Nom IUPAC	4,4'-isopropylidènediphénol
Synonymes	BisphénolA
Famille chimique	Bisphénol
Formule brute	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Formule (semi) développée	

2.2 Propriétés physico-chimiques du bisphénol A

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du BPA

Constantes physico-chimiques	Valeur	Valeurs expérimentales ou modélisées	Références ¹
Forme physique (à T° ambiante)	Solide blanc pouvant se présenter sous forme de poudre, écailles ou cristaux, avec une faible odeur phénolique	Valeur expérimentale	[1] [2] [3] [10] [13]
Poids moléculaire (g/mol)	228,3	Non précisé	[1] [3] [4] [5] [6] [8] [10] [11]
Point d'ébullition (°C)	250-252°C sous 1.7 kPa 360°C sous 101.3 kPa	Valeur expérimentale	[1]
Point de fusion (°C)	150-157°C	Valeur expérimentale	[1] [7] [12] [13]
Point éclair coupelle fermée (°C)	207 à 227°C	Non précisé	[1]

¹ Références bibliographiques :

- [1] Institut national de recherche et de sécurité* (INRS) (2010) Fiche toxicologique FT 279 - Bisphénol A. INRS, (INRS, Paris)
- [2] Commission européenne (CE) Joint Research Centre (2010) European Union Risk Assessment Report - Complete risk assessment in one document, February 2010 - 4,4'-ISOPROPYLIDENEDIPHENOL (BISPHENOL-A) Final approved version awaiting publication.
- [3] Merck* (2006) The Merck Index - 14ème édition.
- [4] Ashford RD (2001) 'Ashford's Dictionary of Industrial Chemicals.'
- [5] Occupational Safety and Health Administration (OSHA) (2003) Safety and Health Topics: Bisphenol A.. United States Department of Labor. Date de mise à jour: 25 Novembre 2003. http://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_221000.html
- [6] IPCS INCHEM Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. BISPHENOL A. Date de mise à jour: Avril 1994. <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0634.htm>
- [7] US National Library of Medicine*. ChemIDPlus - TOXNET Database [base de données en ligne]. En ligne : <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidlite.jsp> Date de consultation . 1-9-2010.
- [8] I.T. Cousins et al. (2002) A Multimedia Assessment of the Environmental Fate of Bisphenol A. Human and Ecological Risk Assessment: Vol. 8, No. 5, pp. 1107-1135. 2002.
- [9] Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) (2010) Portail des substances chimiques INERIS. 4,4'-isopropylidènediphénol. Date de mise à jour: 26/03/10. <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/cas/80-05-7/4>, <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/pdf/520>
- [10] US National Library of Medicine*. Hazardous Substances Data Bank (HSDB) - TOXNET Database [base de données en ligne]. En ligne : <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> Date de dernière révision . 1-10-2008.
- [11] Commission de la santé et de la sécurité du travail - Service du répertoire toxicologique. Bisphénol A. Date de consultation: Septembre 2010. http://www.reptox.csst.qc.ca/Produit.asp?no_produit=4952&nom=Bisph%E9nol+A#30912
- [12] Santé Canada* (2008) Évaluation préalable finale pour le défi concernant le Phénol, 4,4-(1-méthyléthylidène)bis (Bisphenol-A). Santé Canada, (Santé Canada, Ottawa)
- [13] Hawley's Condensed Chemical Dictionary. Fifteenth edition. Richard J. Lewis, Sr. 2007.
- [14] Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) (2010). Portail des substances chimiques INERIS. 4,4'-isopropylidènediphénol. Date de mise à jour: 15/02/11. <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/cas/80-05-7/4>, <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/pdf/520>

Constantes physico-chimiques	Valeur	Valeurs expérimentales ou modélisées	Références ¹
Limite Inférieure d'Explosivité (LIE)	12 g/m ³ avec oxygène > 5%	Non précisé	[1] [2]
Limite Supérieure d'Explosivité (LSE)	Non précisé	Non précisé	
Pression de vapeur (Pa)	5,3.10 ⁻⁶ à 25°C	Valeur expérimentale	[2] [12]
Densité vapeur	Non précisé	Non précisé	
Densité	1,1 à 1,2	Non précisé	[2] [10] [11] [12] [13]
Facteur de conversion	1 ppm = 9,3366 mg/m ³ A 25°C et 1 atm	Non précisé	[11]
Solubilité dans l'eau (mg/L)	120 - 300 à 25°C	Valeur expérimentale	[1] [3] [7] [10]
Log Kow	3,32-3,4	Valeur expérimentale	[1] [2] [7] [8] [9] [10] [12]
Koc (L/kg)	715	Valeur modélisée	[14]

Le bisphénol A est un solide peu soluble dans l'eau, avec un log Kow > 3, indiquant que le BPA a une certaine affinité pour les graisses.

2.3 Synthèse chimique du BPA

Le bisphénol A (BPA) est un solide blanc pouvant se présenter sous forme de poudre, écailles ou cristaux, d'odeur légèrement phénolique (CE, 2010b; INRS*, 2010).

Il est composé de deux cycles aromatiques (phényles) liés par un pont carbone, et appartient à la famille des diphenylalcanes hydroxylés ou bisphénols (Inserm*, 2011).

Il est synthétisé à partir de phénol et d'acétone, soit par une réaction de condensation catalysée par un alcalin en laboratoire, soit industriellement par un acide fort (le plus souvent l'acide chlorhydrique) ou par une résine de polystyrène (CE, 2010b; INRS*, 2010; US National Library of Medicine*, 2008; Ineris, 2010). La réaction de synthèse est présentée ci-dessous :

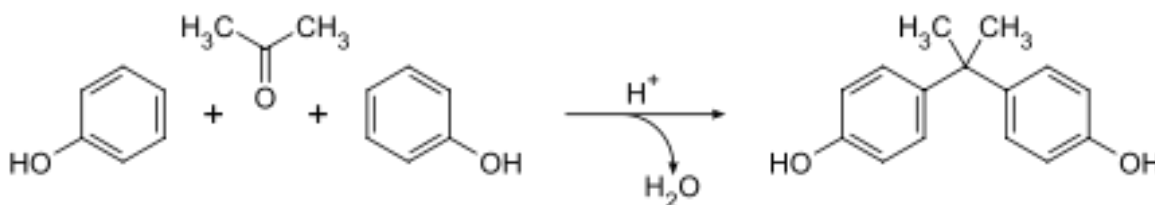


Figure 1 : Réaction de synthèse du BPA

Deux procédés de fabrication existent : le plus classique opère en phase liquide homogène, le second utilise une catalyse hétérogène présentant les caractéristiques suivantes (Ineris, 2010) :

- Les échangeurs d'ions acides avec des atomes de soufre bivalents sont plus souvent utilisés que les acides minéraux,
- Le phénol est utilisé en excès en tant que solvant pour éviter la formation de produits de densité élevée.

L'acétone et le phénol sont injectés dans un réacteur rempli d'échangeur cationique. La conversion du BPA a lieu à environ 75°C. Le mélange est ensuite concentré par la libération de l'eau et de l'acétone sous pression réduite. Lors du refroidissement, le BPA cristallise. Il est alors lavé avec du phénol qui par la suite est distillé sous pression réduite (Ineris, 2010).



3 Réglementation

Une partie générale détaillant les principaux textes réglementaires applicables aux 13 substances prioritaires sera présentée en introduction du rapport général.

- La directive 67/548/CEE du 27/06/67 et règlement (CE) n° 1272/2008 ou CLP

	Classification selon la directive 67/548/CEE	Classification selon le Règlement CLP (Classification, Labelling, Packaging) (Règlement (CE) n°790/2009 de la commission du 10 Août 2009 modifiant le règlement (CE) n°1272/2008.
Nom de la substance dans l'Annexe I	Bisphenol A ; 4,4'-isopropylidenediphenol	
Numéro Index	604-030-00-0	
Classement ATP (Adaptation au Progrès Technique)	30	01
Classification	<p>Repr. Cat. 3; R62 Xi; R37-41 R43 R52 <u>Phrases de risques :</u></p> <p>-R37 : Irritant pour les voies respiratoires -R41 : Risque de lésions oculaires graves -R43 : Peut causer une</p>	<p>Repr. 2 (Reprotoxique de catégorie 2)</p> <p>STOT SE 3 (Toxicité spécifique pour certains organes cibles_Exposition unique, catégorie 3 : irritation des voies respiratoires)</p> <p>Eye Dam. 1 (Lésions oculaires graves, irritation oculaire catégorie 1).</p> <p>Skin Sens. 1 (Sensibilisation cutanée, catégorie 1).</p>

	<p>sensibilisation par contact avec la peau</p> <p>-R62 : Risque possible d'altération de la fertilité (R3)</p> <p>-R52 : Nocif pour les organismes aquatiques</p>	<p>H361f***</p> <p>H335</p> <p>H318</p> <p>H317</p> <p><u>Code de mentions de Danger :</u></p> <p>(**) mention de danger concernant la toxicité pour la reproduction.</p> <p>H361f : Susceptible de nuire à la fertilité</p> <p>H335 : Peut irriter les voies respiratoires</p> <p>H318 : Provoque des lésions oculaires graves</p> <p>H317 : Peut provoquer une allergie cutanée</p>
<p>Etiquetage</p>	<p>Xn</p> <p>R: 37-41-43-62-52</p> <p>S: (2-)26-36/37-39-46-61</p> <p><u>Phrases de sécurité :</u></p> <p>-S2 : Conserver hors de la portée des enfants</p> <p>-S26 : En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.</p> <p>-S36/37 : Porter un vêtement de protection approprié/Porter des gants appropriés.</p> <p>-S39 : Porter un appareil de protection des yeux / du visage</p> <p>-S46 : En cas d'ingestion consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.</p> <p>-S61 : Éviter le rejet dans l'environnement. Consulter les instructions spéciales / la fiche de</p>	<p><u>Code(s) des pictogrammes mentions d'avertissement :</u></p> <p>-SGH 08 : Sensibilisation respiratoire catégorie 1</p> <p>-SGH 07 : Toxicité aiguë catégorie 4</p> <p>-SGH 05 : Substances ou mélanges corrosifs pour les métaux, catégorie 1.</p> <p>-Dgr (Danger)</p> <p><u>Code (s) des mentions de danger :</u></p> <p>-H361f (***)</p> <p>-H335</p> <p>-H318</p> <p>-H317</p>

	données de sécurité	
Symbole d'indication de Danger	 Xn : Nocif	 SGH 05 SGH 07 SGH 08

- **Denrées alimentaires**

Le BPA est autorisé dans les matériaux en contact avec des aliments dans l'Union européenne, conformément au règlement (UE) No 10/2011 de la Commission européenne du 14 janvier 2011. Dans ce cadre, le BPA est autorisé pour la fabrication de matériaux en contact avec les aliments avec une limite de migration spécifique de 0,6 mg/kg dans les aliments. Depuis le 01^{er} avril 2011 la fabrication de biberon en plastique pour nourrisson est interdite ainsi que leur importation et mise sur le marché depuis le 01^{er} juin 2011 (règlement (UE) 321/2011).

- **Règlement REACH (CE) n°1907/2006**

Le Bisphénol A entre dans le champ du Règlement (CE) n°1907/2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances.

Toutes les entreprises fabricantes, importatrices et/ou utilisatrices de substances chimiques sont concernées par ce règlement qui vise à évaluer et à contrôler les substances chimiques fabriquées, importées et utilisées à raison de plus d'une tonne par an sur le marché européen, afin d'en réduire les risques pour la santé et l'environnement liés à leurs utilisations. La procédure REACH prévoyait une phase de pré-enregistrement des substances du 1^{er} juin 2008 au 1^{er} décembre 2008 pour toutes les substances mises sur le marché de l'UE avant le 19 septembre 1981. Le Bisphénol A figure dans la liste des substances pré-enregistrées par les fabricants et importateurs publiée par l'ECHA en janvier 2009 (ECHA 2009).

Après la phase de pré-enregistrement, les fabricants importateurs devaient enregistrer les substances auprès de l'ECHA avant le 1^{er} décembre 2010 si celles-ci étaient :

- Produites ou importées dans une quantité supérieure ou égale à 1000 tonnes/an
- CMR 1 et 2 produites ou importées à plus de 1 tonne/an
- Classées R50/53 produites ou importées à plus de 100 tonnes/an

Au 30 novembre 2010, 4 300 substances ont été enregistrées auprès de l'Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA) qui a reçu au total 24 675 dossiers. Concernant le Bisphénol A, au moins un dossier complet (au titre de l'annexe X de REACH) a été déposé lors de la première vague d'enregistrement de substances supérieures à 1000 tonnes :

Nota bene : le BPA a fait l'objet du dépôt d'un dossier au format Annexe XV dans le cadre des mesures de transitions prévues par l'article 136(3) de REACH auprès de l'agence européenne des produits chimiques, en 2009². Dans ce dossier, le rapporteur a examiné uniquement les scénarios ayant conduit à une conclusion iii pour l'exposition humaine dans le RAR (Risk Assessment Report).

2

http://echa.europa.eu/doc/trd_substances/4_4_isopropylidene_diphenol_bisphenol_a/ann_xv_trd/trd_uk_bisphenol_a.pdf

4 Résultats de l'étude de filières

Cette partie synthétise à la fois l'ensemble des informations recueillies par les recherches bibliographiques (identification des secteurs d'activité potentiellement concernés par le BPA et les usages) et celles obtenues par l'enquête de terrain (questionnaire électronique adressé aux industriels situés sur le territoire français).

Sauf indication contraire, les informations présentées ci-dessous sont extraites d'une étude réalisée par le prestataire sélectionné par l'Agence à l'issue d'un marché public. L'Anses a retenu la société Néodyme, qui a été chargée de réaliser cette enquête auprès des fédérations et des entreprises potentiellement concernées via un questionnaire en ligne, visant à identifier les produits mis à disposition du grand public (à savoir préparations et articles) afin de d'évaluer les niveaux d'exposition et les risques sanitaires pour la population concernée.

4.1 Production, distribution et importation du BPA

Les références annotées du symbole « * » sont extraites d'une étude réalisée par un prestataire extérieur.

4.1.1 Informations issues de la bibliographie

Au niveau mondial, la production annuelle de BPA en 2006 était estimée à 3,8 millions de tonnes (Ineris, 2010). Entre 2003 et 2006 la consommation de BPA a augmenté avec un taux moyen annuel d'environ 10% (Ineris, 2010) : cette hausse s'explique principalement par la forte demande en polycarbonate. Selon SRI Consulting, la demande de BPA pourrait atteindre les 5,5 millions de tonnes en 2011, (données 2007) (Ineris, 2010).

Au niveau européen, la quantité moyenne de Bisphénol A produite annuellement a été évaluée à environ 700 000 tonnes entre 1996 et 1999, pour atteindre 1,6 million de tonnes en 2005 d'après l'association Plastics Europe. Ce chiffre est cohérent avec celui publié dans l'European Risk Assessment Report (CE, 2010a) évaluée à 1,15 million de tonnes. Par ailleurs, la consommation de BPA a nettement augmenté (37%) au sein de l'Union Européenne entre les périodes 1996-1999 (685 000 tonnes/an) et 2005-2006 (1 084 870 tonnes/an) (CE, 2010a; CE, 2003a) .

Aucune production de BPA n'est répertoriée en France, d'après l'enquête annuelle de branche³ réalisée de 2004 à 2007 par l'Insee. Les importations de BPA en France sont estimées à 6 480 t/an avec une consommation nationale propre évaluée à 3 500 t/an en 2005 selon l'inventaire CMR (INRS*, 2005), les 3000 tonnes restantes semblant destinées à l'exportation. Parallèlement, aucune production de BPA par des sociétés françaises en Europe n'a également été répertoriée (Fédération de la Plasturgie, 2011).

Selon l'étude bibliographique réalisée par le prestataire Néodyme, trois importateurs/distributeurs ont été identifiés sur le sol français dans la bibliographie, par le prestataire. Ces industriels ont été contactés par la société Néodyme afin de confirmer ou non leur importation ou distribution de bisphénol A. Il ressort de ces entretiens téléphoniques que :

- 1 industriel a confirmé être distributeur de bisphénol A,
- 1 industriel a indiqué n'être ni fabricant ni distributeur mais utilisateur de bisphénol A,
- 1 industriel n'a pas souhaité répondre sur ses activités en lien avec le bisphénol A.

4.1.2 Tonnage de la substance : informations issues de l'enquête de filières

L'enquête de filières, menée auprès des industriels, a permis d'obtenir une liste non exhaustive d'entreprises concernées par le bisphénol A.

Ainsi seules 42 entreprises ont répondu, via le questionnaire en ligne, être concernées par le bisphénol A. Parmi lesquelles 24 ont clairement déclaré les quantités mises en œuvre (fabriquées, utilisées, distribuées, importées) sur les cinq dernières années. Ces tonnages globaux sont rapportés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Quantités annuelles de bisphénol A mises en œuvre en France déclarées lors de l'enquête en ligne

Tonnes				
2005	2006	2007	2008	2009
1075	2785	3845	3260	2354

³ L'enquête annuelle de branche a deux objectifs majeurs :

- Repérer les différentes activités exercées par les entreprises, via la ventilation de leurs chiffres d'affaires en branche et en déduire leur activité principale(APE)
- Fournir les éléments permettant de produire des données fines sur la production industrielle, à la fois pour répondre aux exigences du règlement européen Prodcom, mais aussi pour répondre aux demandes des utilisateurs nationaux, et notamment aux demandes des organisations professionnelles.

PRODCOM est l'intitulé contracté des enquêtes de production (PROD) industrielle définies à l'échelle communautaire (COM) régies par le règlement (CEE) n°3924/91 du Conseil (19 décembre 1991).

Le Tableau 4 présente les tonnages détaillés par domaine (fabrication, distribution, utilisation et/ou importation).

Tableau 4 : Quantité de bisphénol A fabriquées, importées distribuées en France déclarées dans l'enquête en ligne

Activité ⁴	2005 (tonnes)	2006 (tonnes)	2007 (tonnes)	2008 (tonnes)	2009 (tonnes)
Fabricant	/	/	/	/	/
Distributeur	4	4	4	4	4
Utilisateur (formulateur + R&D)	1071	2781	3841	3256	2350
Importateur	/	/	/	/	/

Comme indiqué précédemment, seules 24 entreprises ont renseigné les quantités annuelles de bisphénol A mises en œuvre. En effet, les 18 entreprises restantes n'ont pas été en mesure de répondre à cette question de manière précise et ont pour la plupart donné une tendance d'utilisation de cette substance. L'analyse des réponses obtenues pour ces entreprises indique une utilisation du BPA en très faible quantité, de l'ordre de quelques kilos par an.

4.2 Identification des secteurs d'activité

Les travaux réalisés par la société Néodyme ont permis de recenser les secteurs d'activité potentiellement utilisateurs de bisphénol A en France.

Le tableau 5 met en regard les industriels, et donc leurs secteurs d'activité respectifs, s'étant déclarés comme concernés par le bisphénol A par l'intermédiaire de l'enquête en ligne, ainsi que les secteurs d'activité préalablement identifiés dans la bibliographie.

⁴ Certaines entreprises peuvent avoir plusieurs activités pour une même substance, dans ce cas le tonnage indiqué est global et la part pour chaque activité est inconnue.

Tableau 5 : Comparaison des secteurs d'activité concernés par le BPA, identifiés dans la bibliographie ainsi que par l'enquête de filières⁵

	Secteurs d'activité recensés dans la bibliographie	Secteurs d'activité déclarés lors de l'enquête en ligne	Nombre total d'entreprises s'étant déclarées concernées par le bisphénol A	Fabricant	Utilisateur aval	Distributeur	Importateur	« Autre »
16.21Z : Fabrication de placage et de panneaux de bois	X							
17.23Z : Fabrication d'articles de papeterie	X							
17.29Z : Fabrication d'autres articles en papier ou en carton	X							
20.14Z : Fabrication d'autres produits chimiques organiques de base	X							
20.16Z : Fabrication de matières plastiques de base	X	X	2		2			1 R&D
20.30Z : Fabrication de peintures, vernis, encres et mastics	X	X	3		3			
20.52Z : Fabrication de colles	X							
20.59Z : Fabrication d'autres produits chimiques	X	X	2		2			
22.11Z : Fabrication et rechapage de pneumatiques	X							

⁵ Une entreprise peut avoir plusieurs activités.

	Secteurs d'activité recensés dans la bibliographie	Secteurs d'activité déclarés lors de l'enquête en ligne	Nombre total d'entreprises s'étant déclarées concernées par le bisphénol A	Fabricant	Utilisateur aval	Distributeur	Importateur	« Autre »
22.19Z : Fabrication d'autres articles en caoutchouc	X							
22.21Z : Fabrication de plaques, feuilles, tubes et profilés en matières plastiques	X	X	1		1			
22.22Z : Fabrication d'emballages en matières plastiques	X							
22.23Z : Fabrication d'éléments en matières plastiques pour la construction	X							
22.29B : Fabrication de produits de consommation courante en matières plastiques	X							
23.14Z : Fabrication de fibres de verre	X							
23.19Z : Fabrication et façonnage d'autres articles en verre, y compris verre technique	X							
23.64Z : Fabrication de mortiers et bétons secs	X							
23.91Z : Fabrication de produits abrasifs	X							
23.99Z : Fabrication d'autres produits minéraux non métalliques	X							
25.29Z : Fabrication d'autres réservoirs, citernes et conteneurs métalliques	X							
25.61Z : Traitement et revêtement des métaux	X	X	2		2			
25.73B : Fabrication d'autres outillages	X							
25.92Z : Fabrication d'emballages métalliques	X							

	Secteurs d'activité recensés dans la bibliographie	Secteurs d'activité déclarés lors de l'enquête en ligne	Nombre total d'entreprises s'étant déclarées concernées par le bisphénol A	Fabricant	Utilisateur aval	Distributeur	Importateur	« Autre »
légers								
25.99B : Fabrication d'autres articles métalliques	X	X	1		1			
26.12Z : Fabrication de cartes électroniques assemblées	X							
26.11Z : Fabrication de composants électroniques	X	X	1		1			
26.20Z : Fabrication d'ordinateurs et d'équipements périphériques	X							
26.30Z : Fabrication d'équipements de communication	X							
26.40Z : Fabrication de produits électroniques grand public	X							
26.70Z : Fabrication de matériels optique et photographique	X							
26.80Z : Fabrication de supports magnétiques et optiques	X							
27.33Z : Fabrication de matériel d'installation électrique	X							
27.40Z : Fabrication d'appareils d'éclairage électrique	X							
27.51Z : Fabrication d'appareils électroménagers	X							
29.10Z : Construction de véhicules automobiles	X	X	2		2			
29.32Z : Fabrication d'autres équipements	X							

	Secteurs d'activité recensés dans la bibliographie	Secteurs d'activité déclarés lors de l'enquête en ligne	Nombre total d'entreprises s'étant déclarées concernées par le bisphéno A	Fabricant	Utilisateur aval	Distributeur	Importateur	« Autre »
automobiles								
30.11Z : Construction de navires et de structures flottantes	X							
30.30Z : Construction aéronautique et spatiale	X	X	1		1			
32.30Z : Fabrication d'articles de sport	X							
32.50A : Fabrication de matériel médico-chirurgical et dentaire	X	X	2		2			
32.50B : Fabrication de lunettes	X							
32.99Z : Autres activités manufacturières	X							
46.12B : Autres intermédiaires du commerce en combustibles, métaux, minéraux et produits chimiques	X							
46.75Z : Commerce de gros (commerce interentreprises) de produits chimiques	X	X	4		1	3		
22.29a / Fabrication De pièces techniques à base de matières plastiques		X	3		3			
23.41Z : Fabrication d'articles céramiques à usage domestique ou ornemental		X	1		1			
24.10Z : Sidérurgie		X	2		2			
24.51Z : Fonderie de fonte		X	1		1			
25.73A : Fabrication de moules et de modèles		X	1		1			

	Secteurs d'activité recensés dans la bibliographie	Secteurs d'activité déclarés lors de l'enquête en ligne	Nombre total d'entreprises s'étant déclarées concernées par le bisphénol A	Fabricant	Utilisateur aval	Distributeur	Importateur	« Autre »
26.51B : Fabrication d'instrumentation scientifique et technique		X	3		3			
27.11Z : Fabrication de moteurs, génératrices et transformateurs électriques		X	2 ⁶					1 : Dans le process
27.32Z : Fabrication d'autres fils et câbles électroniques ou électriques		X	1		1			
27.90Z : Fabrication d'autres matériels électriques		X	2		2			
30.20Z : Construction de locomotives et d'autre matériel ferroviaire roulant		X	1		1			
33.20A : Installation de structures métalliques, chaudronnées et tuyauterie		X	1					1 : installateur de tuyauterie composite
46.71Z : Commerce de gros (commerce interentreprises) de combustibles et de produits annexes		X	1			1		

⁶ Une entreprise n'a pas précisé, dans le questionnaire, son type d'activité au sujet du bisphénol A.

	Secteurs d'activité recensés dans la bibliographie	Secteurs d'activité déclarés lors de l'enquête en ligne	Nombre total d'entreprises s'étant déclarées concernées par le bisphénol A	Fabricant	Utilisateur aval	Distributeur	Importateur	« Autre »
46.72Z : Commerce de gros (commerce interentreprises) de minerais et métaux		X	1				1	
74.90B : Activités spécialisées, scientifiques et techniques diverses		X	1					1 : recherche

4.3 Usages identifiés dans la bibliographie

Les différents usages du bisphénol A identifiés dans la bibliographie sont synthétisés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Usages identifiés dans la bibliographie

Utilisé en tant que monomère dans la synthèse de polymères : <ul style="list-style-type: none"> - Les polycarbonates - Le polyester carbonate - Les polyarylates - Les polysulfones - Les polyétherimides - Les polyols
Utilisé dans la synthèse de résines : <ul style="list-style-type: none"> - Les résines époxydes - Les résines vinylesters - Les résines phénoplastiques - Les résines phénoliques - Les résines de polyesters insaturées
Utilisé en tant que réactif pour la synthèse de bisphénol A éthoxylé
Utilisé en tant que composant d'un polyamide
Réactif pour la fabrication de retardateurs de flamme : <ul style="list-style-type: none"> - le tétrabromobisphénol A (TBBPA) - le tétrachlorobisphénol A (TCBPA) - le bisphénol A bis (diphénylphosphate) (BDP)
Utilisé en tant que révélateur pour papier thermique
Utilisé dans l'industrie automobile : <ul style="list-style-type: none"> - Antioxydant dans la fabrication des pneus - Antioxydant des liquides de freins ou fluides hydrauliques
Utilisé dans les formulations de fongicides (hors UE)
Utilisation de polymères à base de BPA dans les cosmétiques (rouge à lèvres, maquillage pour le visage et les yeux, vernis à ongles) (pas en France)
Utilisé dans la composition de fluides caloporteurs et de lubrifiants, et comme agent de traitement pour resurfaçage du béton
Utilisé en tant que précurseur dans la synthèse de benzoxazines

4.3.1 Les polymères

4.3.1.1 Les polycarbonates

Tous les polycarbonates ne sont pas fabriqués à partir de BPA et tous les polycarbonates ne sont pas des plastiques. Cependant le plastique polycarbonate PC est quant à lui obligatoirement synthétisé à partir de bisphénol A (communication Plastics Europe, 2011).

Les 2/3 de la production mondiale de BPA sont destinés à la fabrication de polycarbonate. En Europe, il existe cinq usines de production, basées en Allemagne, Pays Bas, Belgique et en Espagne, et exploitées par trois sociétés (Fédération de la Plasturgie, 2011).

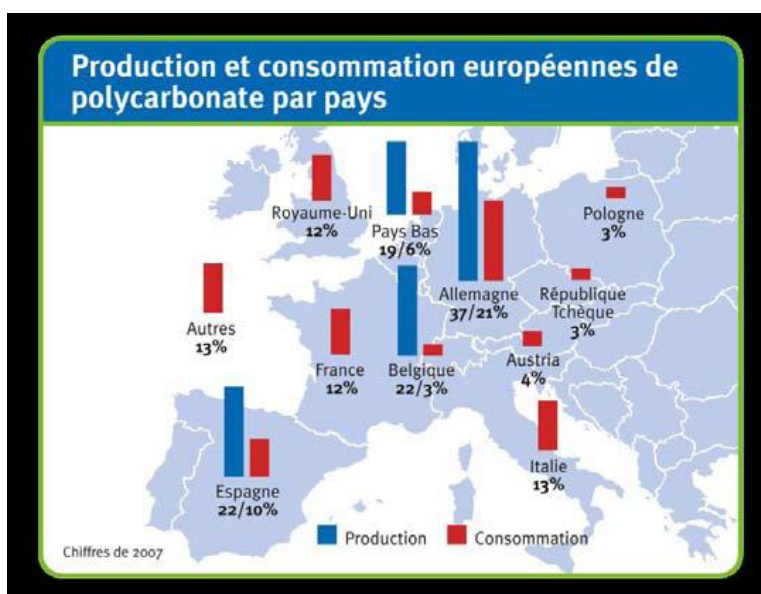


Figure 2 : Production et consommation européennes de polycarbonate par pays (Fédération de la Plasturgie, 2011)

Le bisphénol A réagit tout d'abord avec de l'hydroxyde de sodium pour constituer un sel sodique de bisphénol A, qui réagit ensuite avec le phosgène pour produire le polycarbonate.

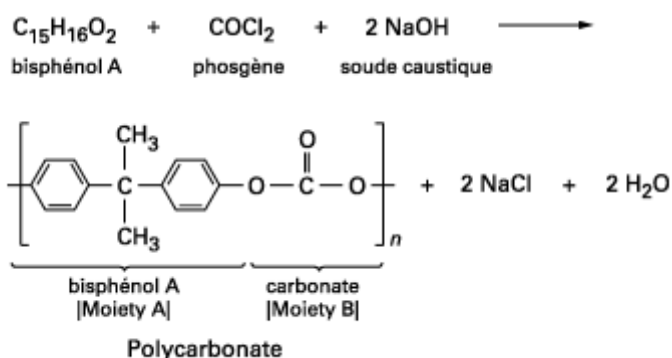


Figure 3 : Réaction de formation de polycarbonate (2007)

Il existe deux types de polycarbonates selon les réactifs et les procédés de synthèse : les thermodurcissables et les thermoplastiques. Le polycarbonate de bisphénol A appartient à la seconde famille des thermoplastiques (Ineris, 2010). Ces polymères possèdent les caractéristiques suivantes : clarté et résistance à la chaleur et aux chocs. Néanmoins, ils ont une résistance limitée aux agents chimiques : l'hydrolyse du polymère peut survenir à température élevée et à pH alcalin, réaction pouvant libérer du bisphénol A.

Selon l'European Risk Assessment Report 2010, chiffres 2005/2006, environ 865 000 tonnes de BPA sont utilisés en Europe pour la fabrication des polycarbonates (CE, 2010b; Ineris, 2010).

Les secteurs d'utilisation des polycarbonates sont présentés ci-dessous :

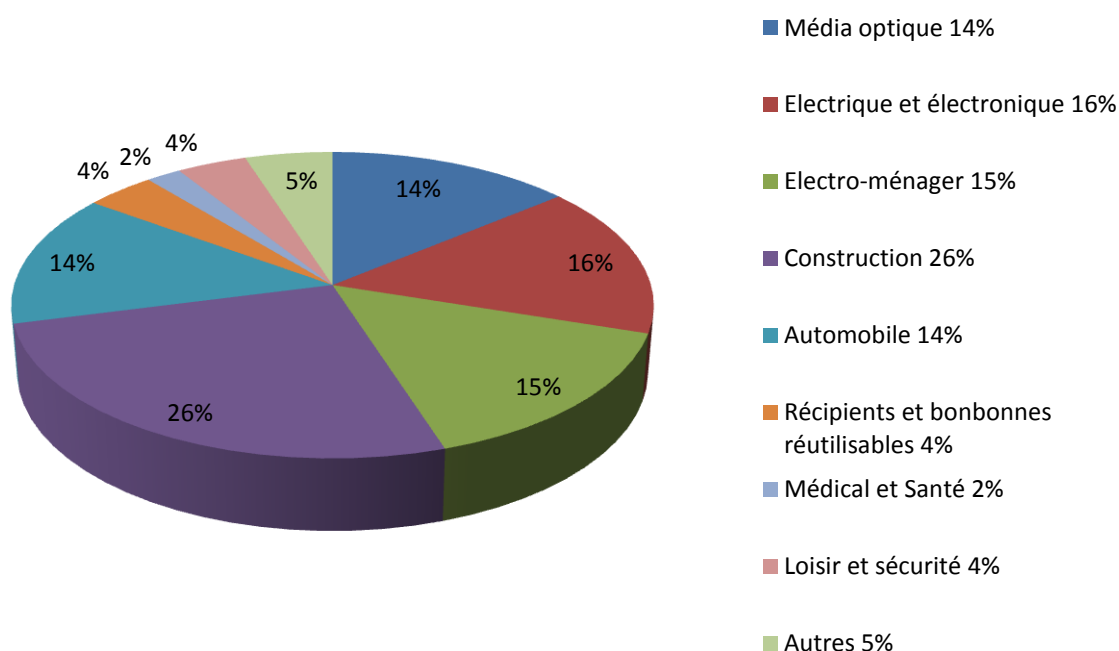


Figure 4 : Domaines d'utilisation des polycarbonates (Fédération de la Plasturgie, 2011)

Les applications du polycarbonate sont (Santé Canada*, 2008; CE, 2010b; Inserm*, 2011; Ineris, 2010) :

Tableau 7 : Applications des polycarbonates (Plastic Europe 2007)

Secteurs	Applications
Média optique	<ul style="list-style-type: none"> - CD, DVD, Blu-Ray et autres media/support audio ou vidéo ;
Electrique et électronique	<ul style="list-style-type: none"> - équipements électriques tels que prises et interrupteurs ; - boîtiers pour équipements électroniques : articles moulés par injection de mélanges de polycarbonate, principalement utilisés dans l'industrie électrique et électronique (dispositifs d'alarme, boîtiers de téléphone portables, bobinages, écrans, ordinateurs, électroménager, lampes, prises de courant, etc.) ;
Electro-ménager	<ul style="list-style-type: none"> - bouilloire (règlette transparente)...
Construction	<ul style="list-style-type: none"> - couvertures de panneaux solaires ; - toits des stades et d'installations sportives.
Automobile	<ul style="list-style-type: none"> - certains articles automobiles (vitrages de sécurité, réflecteurs de lumière, optiques de phares, pare-chocs, grilles de radiateurs et de ventilation, dispositifs d'éclairage intérieur, pare-brises de motos et casques, modules de toit des voitures, pièces de décoration intérieure de tableau de bord ou portière etc.) ;
Récipients et bonbonnes réutilisables	<ul style="list-style-type: none"> - récipients alimentaires tels que les bonbonnes d'eau réutilisables, les biberons antichocs ; - articles de vaisselle comme les assiettes, les tasses, les gourdes ;
Médical et santé	<ul style="list-style-type: none"> - équipements médicaux (oxygénateurs de sang, respirateurs dialyseurs, incubateurs, appareils respiratoires, instruments à usages

Secteurs	Applications
	uniques) ; cette utilisation est confirmée par le Syndicat National de l'Industrie des Technologies Médicales (SNITEM) qui précise que le polycarbonate est utilisé pour ses propriétés de résistance physique et chimique importantes, et sa transparence ;
Loisirs et sécurité	<ul style="list-style-type: none"> - équipements optiques (verres de vue, lunettes de protection, montures, verres solaires, lentilles de caméras thermiques, etc.) ; - articles de sport et équipements de protection (par exemple, visière de casque de hockey) ;
Autres	<ul style="list-style-type: none"> - toutes les applications qui ne rentrent pas dans les autres catégories comme par exemple les meubles et la décoration...

4.3.1.2 Le polyester carbonate

Il est synthétisé à partir de deux bisphénols : bisphénol A et bisphénol TMC.

Il est utilisé dans les domaines suivants (Ineris, 2010) :

- Automobile et transport
- Produits de consommation : parties de sèche-cheveux, parties de fer à repasser, portes de micro-ondes...
- Electrique/Electronique : fusibles, interrupteurs, réflecteurs et diffuseurs de lumière...
- Industrie : masques de protection, témoins lumineux...
- Médical : dans les autoclaves, éclairages pour chirurgie, emballage médical...

4.3.1.3 Les polyarylates

Certains polyarylates peuvent être synthétisés à partir de bisphénol A.

Ils sont utilisés dans une large gamme d'applications, notamment dans les équipements médicaux, le traitement des eaux (conduites, pompes...), l'automobile, l'aéronautique...(Ineris, 2010).

4.3.1.4 Les polysulfones

Le polysulfone (PSU) est obtenu à partir d'une réaction de substitution nucléophile entre le sel disodique de bisphénol A et le sulfone de 4,4 dichlorodiphényle (Société des plastiques industriels compressés).

Les polysulfones sont des polymères thermoplastiques synthétisés par polycondensation. Il en existe trois types (INRS*, 2006; Ineris, 2010) :

- Les polysulfones obtenus à partir de bisphénol A
- Les polyéthersulfones
- Les polyarylsulfones

Les propriétés caractéristiques des polysulfones sont les suivantes :

- Rigidité et résistance mécanique élevées
- Stabilité thermique et résistance à l'oxydation
- Bonnes propriétés électriques et diélectriques
- Stabilité dimensionnelle

Ils offrent une meilleure résistance à la chaleur et une meilleure stabilité hydrolytique que les polycarbonates. Les polysulfones gardent leurs propriétés mécaniques quand ils sont exposés à de la vapeur d'eau et autres techniques de stérilisation. Ils peuvent être utilisés comme matériel alternatif au polycarbonate pour leurs propriétés : ultra transparent, stérilisable, utilisable au lave-vaisselle sur une longue durée et résistance aux impacts. Leur résistance aux hautes températures leur permet d'être utilisés en tant que retardateur de flamme sans altération de solidité. Les polysulfones ont une bonne résistance aux acides, aux bases, aux huiles et aux graisses. Toutefois, ils sont attaqués par les cétones, les esters et certains solvants chlorés ou aromatiques.

Les polysulfones présentent divers usages (US National Library of Medicine*, 2008; INRS*, 2006; Ineris, 2010) :

- Dans le domaine médical : plateaux chirurgicaux, humidificateur...
- Dans l'électroménager : ustensiles de micro-ondes, distributeurs, pièces de cafetières, de cuisinières, de sèche-cheveux...
- Comme matériau de membranes de filtration : hémodialyse, eau potable, séparation de gaz, agroalimentaire...
- En plomberie

4.3.1.5 Les polyétherimides

Les polyétherimides sont des plastiques très performants avec de bonnes propriétés mécaniques, thermiques et électroniques. Ils sont plus résistants aux températures élevées et plus durs que les polycarbonates et polysulfones (Geens *et al.*, 2011).

Synthétisés à partir de dianhydride de BPA, leurs principaux usages sont les suivants (IDES*, 2010) :

- Médicaux,
- Electroniques et électriques : éléments d'antennes-satellites, éléments de piles à combustibles au méthanol,
- Automobile,
- Aéronautique : pièces dans l'aviation, éléments de cockpits, des radômes (pièces de protection de radars),
- Alimentaire : éléments de pompes de distributeurs de boissons (Ineris, 2010).

4.3.1.6 Les polyols

Utilisés dans la production de polyuréthane, les polyols produits à partir de BPA représentent une utilisation relativement faible estimée à 950 tonnes de BPA par an en Europe. Un seul site en Europe utiliserait des polyols produits à partir de BPA pour fabriquer du polyuréthane (Chiffres 1996/1999) (CE, 2003a, CE*, 2003b). Les polyuréthanes peuvent servir à fabriquer, par exemple, des mousses souples, des plastiques et des peintures pour l'ameublement, l'automobile, du cuir synthétique, plastiques industriels et autres nombreux produits de grande consommation (CE, 2003a).

4.3.2 Les résines

4.3.2.1 Les résines époxydes

La production de résines époxydes est la seconde utilisation majeure du bisphénol A avec 191 520 tonnes de BPA utilisées par an, selon l'European Risk Assessment Report 2010, chiffres 2005/2006 (CE, 2010b). Il en existe différents types selon les réactifs utilisés. Ces derniers comprennent les composés polyphénoliques, les mono et diamines, les aminophénols, les imides et amides hétérocycliques, les diols aliphatiques et les polyols et les dimères d'acide gras (Ineris, 2010).

Le diglycidyl éther de bisphénol A (BADGE ou DGEBA) est la résine époxyde la plus utilisée (95% des résines époxydes en tonnage mondial), synthétisée à partir de bisphénol A et d'épichlorhydrine, en présence de soude, selon la réaction présentée ci-dessous (CE, 2010b; Ineris, 2010).

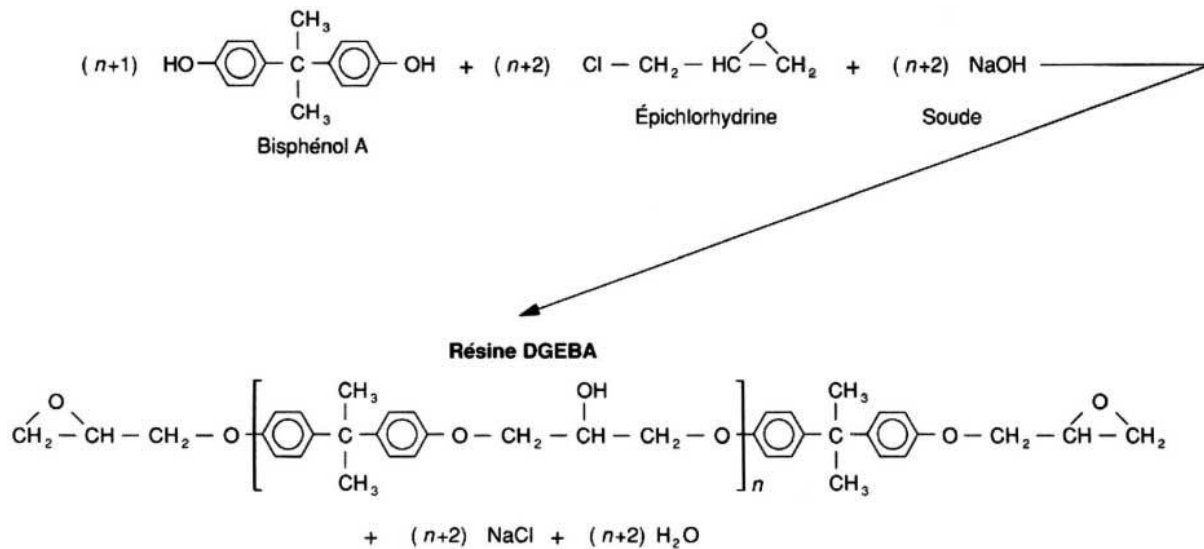


Figure 5 : Synthèse des résines à base de bisphénol A, (Techniques de l'ingénieur*, 1992)

Selon la valeur moyenne de l'indice n , la résine est plus ou moins longue. Le paramètre n dépend du rapport molaire entre l'épichlorhydrine et le bisphénol A.

- Si $0 < n < 1$: la résine époxyde est liquide
- Si $1 < n < 1,5$: la résine est visqueuse
- Si $n > 1,5$: la résine est solide

Les résines époxydes sont utilisées pour leur capacité de protection contre la corrosion et leur stabilité thermique. Ce sont les groupes époxydiques $\text{H}_2\text{C} - \text{CH}(\text{O}) -$ qui à chaque extrémité de la chaîne sont responsables de la très grande réactivité des résines époxydes. Les groupes hydroxyles OH, qui se trouvent au milieu de la molécule, peuvent également réagir ; ce sont eux qui initient la réaction avec les durcisseurs de type anhydride (Techniques de l'ingénieur*, 1992).

Ces résines sont ensuite utilisées comme couches de protection, composites, stratifiés, dans des applications électriques et électroniques, dans l'industrie du bâtiment et la construction, et dans la fabrication d'adhésifs (Ineris, 2010).

Les secteurs d'utilisation des résines époxy sont les suivants :

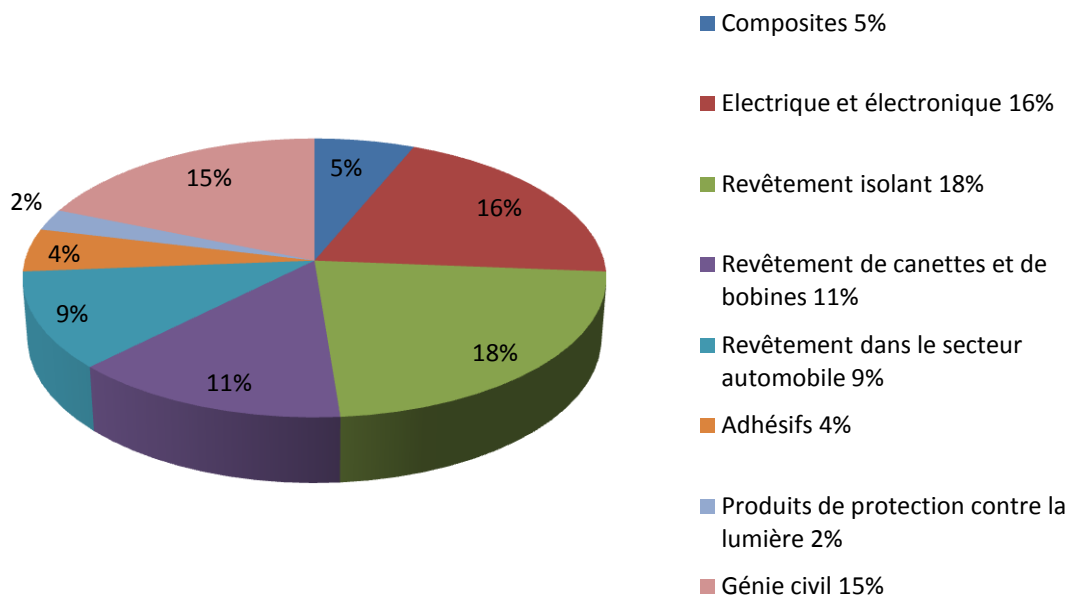


Figure 6 : Domaines d'utilisation des résines époxydes (Plastics Europe, 2007)

Les applications des résines époxydes sont les suivantes (Santé Canada*, 2008; CE, 2010b; Inserm*, 2011; Santé Canada*, 2010b; Ineris, 2010) :

Tableau 8 : Applications des résines époxydes (Plastics Europe, 2007)

Secteurs	Applications
Composites	<ul style="list-style-type: none"> - raquettes, planches de surf, casques, tuyaux, pales d'éolienne. - composites dans les coques de navires, les structures des avions et des cars.
Electricité et électronique	<ul style="list-style-type: none"> - cartes et circuits imprimés
Revêtement isolant	<ul style="list-style-type: none"> - revêtements de sols (bâtiments industriels et public) - outils et équipements de jardinage - outils coupants dans le domaine alimentaire - revêtement d'ustensiles de cuisson
Revêtement de canettes et de bobines	<ul style="list-style-type: none"> - revêtements pour l'alimentation en conserves et les boissons en

Secteurs	Applications
	canette : intérieur des boîtes, intérieur des capsules métalliques de bouteilles ou pots de verre <ul style="list-style-type: none"> - équipements électroménagers (frigidaires, lave-vaisselles, aspirateurs) - équipements de chauffage, ventilation, d'air conditionné
Revêtement dans le secteur automobile	<ul style="list-style-type: none"> - pièces et revêtements automobiles
Adhésifs	<ul style="list-style-type: none"> - colles grand public et multi-usages - colles et mastics pour les travaux publics - mortier pour pose de carrelages et pour sols - colles pour revêtements de sols (linoléum, dalles) - vernis, mastic pour bois
Produits de protection contre la lumière	<ul style="list-style-type: none"> - encre d'imprimerie - revêtements du bois - vernis sur les papiers, cartons, packaging - revêtements pour les plastiques et les métaux
Génie civil	<ul style="list-style-type: none"> - produits de renforcement/réparation de surface en béton, matériaux divers pré imprégnés de résines : cloisons mobiles, panneaux décoratifs, graviers... - revêtements de coffrages en aluminium, de moules en béton ou en plâtre, dans les travaux publics - revêtement de contenants métalliques (containers maritimes, citernes, tours réfrigérantes, réservoirs de stockage industriel) - revêtements de ponts en acier - revêtements des tubes et canalisations de gaz d'eau potable - construction de panneaux métalliques (toitures) et de panneaux en bois agglomérés. - fibres de verre de construction - poudre de revêtement sur les barres d'armature du béton, sur les grilles d'étagères et dans les couches d'apprêt

4.3.2.2 Les résines vinylesters

Le BPA est utilisé indirectement pour la fabrication de résines vinylesters. Ces résines sont obtenues par addition d'un acide carboxylique sur une résine époxy. Les acides les plus courants sont l'acide acrylique et méthacrylique. Les résines vinylesters dérivées du BPA sont les plus couramment utilisées (Ineris, 2010).

Les principaux domaines d'application des résines vinylesters sont (Techniques de l'ingénieur*, 2003) :

- Construction automobile,
- Construction maritime,
- Piscines,
- Mortiers et bétons,
- Revêtements (sols, etc.),
- Supports de fibres optiques,
- Aéronautique,
- Bouteilles de gaz.

4.3.2.3 Les résines phénoplastes

Fabriquées à partir de BPA et de formaldéhyde, ces résines représentent une consommation européenne de 8 800 tonnes/an de BPA (selon l'European Risk Assessment Report 2010, chiffres 2005/2006) (CE, 2010b; INRS*, 2005). Les phénoplastes ont des applications dans des domaines très variés, et sont notamment utilisées (Techniques de l'ingénieur*, 1991) :

- dans l'industrie du bois (contreplaqués, panneaux de particules),
- dans l'industrie du papier (stratifiés, séparateurs de bacs d'accumulateurs, filtres),
- en isolation (agglomération de fibres, mousses),
- dans les abrasifs (pour meules, papiers),
- dans les matériaux de friction (pour freins, embrayages),
- dans l'industrie du caoutchouc et des adhésifs,
- dans les revêtements (peintures, couches de protection, fils émaillés, encres d'imprimerie),
- dans des applications nouvelles de haute technologie (obtention de carbone et de graphite, composites).

4.3.2.4 Les résines polyesters insaturées

Ces résines représentent une consommation européenne de 3 600 tonnes/an de BPA (Chiffres 2005/2006), et sont divisées en deux groupes (CE, 2010b) :

- les Bisphénol fumarates, utilisés dans des applications impliquant des milieux très corrosifs,
- les BPA époxy diméthacrylates qui présentent d'importantes propriétés de flexions et d'élongations.

Les résines polyesters non saturées sont utilisées principalement dans les applications suivantes (Techniques de l'ingénieur*, 2004) :

- vernis pour meubles (application ancienne) ;
- gel-coats (utilisés comme couche extérieure sur les bateaux, avions, piscines...) ;
- boutons ;
- inclusions ;
- mastics (étanchéité, scellement, réparation automobile) ;
- construction (mortiers et bétons) ;
- marbre reconstitué, faux bois, faux ivoire, etc.

4.3.3 Bisphénol A éthoxylé

Utilisé comme intermédiaire dans la fabrication de certains types de résines époxy, le bisphénol A éthoxylé représente une consommation européenne annuelle de 2 260 tonnes de BPA (Chiffres 2005/2006) (CE, 2010b).

L'unique information obtenue dans la littérature sur ces types de résines époxy concerne la fabrication d'un produit à partir de BPA éthoxylé où celui-ci est utilisé pour augmenter l'adhérence et la résistance à l'usure par frottement et abrasion dans des formulations durcissables aux UV, comme les vernis pour bois, les encres (Fiche technique*, 2008).

4.3.4 Les polyamides

Le BPA peut être introduit en tant qu'additif dans un polyamide (moins de 8%) pour lui conférer une stabilité dans les domaines électrotechniques. Les classes de polyamide modifié ainsi produites présentent de faibles capacités d'absorption d'humidité, conférant ainsi une stabilité dimensionnelle améliorée aux produits finis pour des applications électrotechniques (CE, 2010b; Ineris, 2010).

Environ 150 tonnes de BPA sont utilisées chaque année dans la production de polyamide modifié (Chiffres 1996/1999) (CE, 2010b). Un seul site européen, également fabricant de BPA, semble en faire cet usage (CE, 2010b).

4.3.5 Les retardateurs de flamme

4.3.5.1 Tétrabromobisphénol A

Le bisphénol A est utilisé dans la production d'un retardateur de flamme, le tétrabromobisphénol-A (TBBPA). Celui-ci contient des traces de BPA de l'ordre de 3 ppm (Geens *et al.*, 2011). Le TBBPA sert de monomère dans la fabrication de retardateurs de flamme, tels que les résines époxy bromés, les polycarbonates et les résines phénoliques pour circuits imprimés (CE, 2010b; Ineris, 2010; Inserm*, 2011).

La production de TBBPA en Europe était réalisée sur un seul site. Elle s'est arrêtée en 2000 (INRS*, 2010; CE, 2010b). Les produits de consommation répertoriés contenant le plus de TBBPA en poids relatif sont les ordinateurs, les téléviseurs et les lave-vaisselles (Ineris, 2010).

Le TBBPA pourrait être transformé partiellement en bisphénol A dans les stations d'épuration ou dans l'environnement (Ineris, 2010).

4.3.5.2 Tétrachlorobisphénol A

Le bisphénol A est également utilisé dans la production d'un second retardateur de flamme, le tétrachlorobisphénol A. Il est utilisé comme additif dans les polymères, les résines epoxy, les résines phénoliques et les adhésifs (Horikoshi *et al.*, 2008).

4.3.5.3 Le bisphénol A bis (diphénylphosphate)

Le bisphénol A bis (diphénylphosphate) (BDP) est un autre retardateur de flamme dérivé du BPA, mais nettement moins utilisé que le TBBPA. Il est parfois proposé comme alternative aux retardateurs de flamme halogénés. Il est par ailleurs lui aussi susceptible de se dégrader en bisphénol A dans l'environnement aquatique (Ineris, 2010).

4.3.6 Les papiers thermiques

Le BPA sert d'additif dans le revêtement appliqué sur le papier. Il est utilisé en tant qu'agent révélateur quand le papier est chauffé, permettant une réaction chimique qui aboutit à la production de couleur lors de l'utilisation du papier thermique (Ineris, 2010; Inserm*, 2011; CE, 2010b).

Selon le Centre Technique du Papier (CTP), le bisphénol A serait toutefois de moins en moins utilisé dans les papiers thermiques.

Il existe deux types de papier thermique selon les utilisations qui en sont faites (CE, 2010b; Ineris, 2010) :

- Le top coating, ou papier haut de gamme, est utilisé pour les étiquettes d'identification (colisage, pesage des fruits et légumes en libre-service, identification des aliments frais pré-emballés, ...), les tickets (cinéma, concert...), les badges d'identification, les étiquettes autoadhésives, les billets de loterie, les reçus de loto
- L'éco-paper ou papier thermique non protégé, est utilisé dans les reçus, tickets de caisse et factures de cartes bancaires

Suite à une communication de la société Ricoh, seul fabricant français de top coating, le BPA n'est plus utilisé depuis les années 2000 dans les papiers thermiques top coating. Le BPA n'est pas un révélateur assez rapide pour le top coating.

Le bisphénol A est principalement utilisé dans l'éco-papier, bien qu'il soit de plus en plus substitué.

L'usage des papiers thermiques, se justifie par le fait qu'ils permettent au détenteur de l'appareil d'impression de papier, une maintenance minimale limitée à l'alimentation en supports « papier » de l'appareil : il n'y a ni pigment d'encre « tonner » ou cartouche d'encre à changer, ni nettoyage à effectuer (Ineris, 2010).

4.3.7 L'industrie automobile

4.3.7.1 Fluides de freinage

Des dérivés du BPA sont utilisés dans les fluides hydrauliques, en particulier le TBBPA. Le BPA lui-même est parfois ajouté dans de faibles proportions à des liquides de freins ou fluides hydrauliques en tant qu'antioxydant. Cet usage représente en Europe environ 45 tonnes par an (Chiffres 1996/1999) (CE, 2003a).

L'Union Française des Industries Pétrolières (UFIP) a confirmé en novembre 2010, que le bisphénol A n'est utilisé que dans certaines formulations de fluides de freins (en concentration inférieure à 1%). Les fluides de freins sont vendus en station-service et en grande distribution, et par conséquent sont accessibles au grand public. Les volumes écoulés par ces canaux de vente grand-public doivent cependant être très limités, la vidange des circuits de freins étant en général faite par des professionnels.

4.3.7.2 Pneus

110 tonnes/an de BPA sont utilisées dans la fabrication de pneus (Chiffres 1996/1999) (CE, 2003a). Un seul site en Europe utiliserait le BPA comme composant des pneus de voiture, incorporé à la matrice de polymère pour ses propriétés anti oxydantes (CE, 2010b; Ineris, 2010).

4.3.8 Industrie des peintures

Le Centre Technique Industriel de la Construction Métallique (CTICM) indique en 2010 le fait que les bisphénols peuvent être utilisés dans les durcisseurs des peintures.

4.3.9 Autres utilisations

4.3.9.1 Fabrication des fongicides

Le BPA peut être utilisé dans les formulations de fongicides, mais cela ne semble pas (ou plus) être le cas dans l'Union Européenne. De même, d'après les sources consultées, cette utilisation n'a pas été documentée en France (CE, 2010b; US National Library of Medicine*, 2008; Santé Canada*, 2010a; Ineris, 2010).

4.3.9.2 Cosmétiques

Les polymères à base de BPA peuvent aussi entrer dans la composition de cosmétiques, comme le rouge à lèvres, le maquillage pour le visage et les yeux et le vernis à ongle. D'après les sources consultées, cette utilisation n'a pas été documentée en France (Santé Canada*, 2008; Ineris, 2010).

4.3.9.3 Fluides caloporteurs et lubrifiants

Une source issue d'une enquête menée auprès de l'industrie canadienne cite également l'utilisation de bisphénol A dans la composition de fluides caloporteurs et de lubrifiants, et comme agent de traitement pour resurfaçage du béton mais n'a pas été confirmée en France (Santé Canada*, 2008).

4.3.9.4 Benzoxazines

Le BPA est également utilisé en tant que précurseur dans la synthèse de monomères de benzoxazines. Les polybenzoxazines suscitent un intérêt tout d'abord, de part leurs propriétés de résistance thermique et de résistance à la flamme des composés phénoliques, mais également de part leurs performances mécaniques et la flexibilité de conception moléculaire. Les polybenzoxazines se retrouvent dans diverses applications de l'industrie des composites, dans des revêtements, des adhésifs et des encapsulants (Geens *et al.*, 2011).

4.3.9.5 Les produits dentaires

Des ciments dentaires contenant des polymères à base de BPA sont utilisés dans les matériaux composites de restauration et de scellement à base de résine (Santé Canada*, 2008; CE, 2010b; Inserm*, 2011; Ineris, 2010). Le BPA peut être soit présent comme impureté dans ces ciments (cas du bisphénol A glycidyl méthacrylate ou bis-GMA), soit comme sous-produit de dégradation (cas du bisphénol A diméthacrylate ou BIS-DMA) (Ineris, 2010).

4.3.9.6 PVC

Selon l'European Risk Assessment Report (Chiffres 1996/1999) (CE, 2003a), 2 250 tonnes/an de BPA ont été utilisées dans la fabrication de PVC. Le BPA intervient en tant que :

- Agent antioxydant dans le traitement du PVC (CE, 2010b; Inserm*, 2011),
- Constituant d'un pack d'additif utilisé pour le traitement du PVC (Ashford 2001; CE, 2010b; Inserm*, 2011; INRS*, 2005),
- Agent antioxydant dans la production de plastifiants utilisés dans la transformation du PVC (CE, 2010b),
- Agent inhibiteur de réaction pendant la phase de polymérisation du PVC (utilisation arrêtée en 2003) (CE, 2010b).

Cette utilisation de BPA dans la fabrication de PVC a toutefois été progressivement arrêtée par accord volontaire des industriels depuis 2001 (CE, 2010b), avec arrêt total depuis 2005 (communication Plastics Europe, 2011).

4.3.10 Récapitulatif des usages et des articles et préparations susceptibles de contenir du BPA

Le Tableau 9 présente un récapitulatif des articles et préparations susceptibles de contenir du BPA. Il concerne les polymères, résines et autres synthétisés à partir de bisphénol A.

Tableau 9 : Récapitulatif des articles et préparations susceptibles de contenir du BPA

Utilisation	Catégorie d'articles ou de préparations susceptibles de contenir du BPA
Polycarbonates utilisés pour la fabrication de média optiques	Supports optiques vierges
Polycarbonates utilisés pour la fabrication d'équipements optiques	Lentilles de contact ; verres de lunettes de tous matériaux
	Lunettes correctrices, protectrices ou autres
Polycarbonates utilisés pour la fabrication d'articles de vaisselle	Vaisselle, autres articles de table ou d'économie domestique et articles de toilette, autres qu'en porcelaine
Polycarbonates utilisés pour la fabrication de récipients alimentaires	Contenant et emballage alimentaire
	Bonbonnes, bouteilles, flacons et articles similaires en matières plastiques
Polycarbonates et résines époxy utilisés pour la fabrication d'électroménager	Appareils électroménagers

Utilisation	Catégorie d'articles ou de préparations susceptibles de contenir du BPA
Polycarbonate, résines polyarylates, résines polysulfones, résines polyéther-imides utilisés pour la fabrication d'équipements médicaux ou de produits dentaires	Instruments et fournitures à usage médical et dentaire
Polycarbonate, résines polysulfones, résines polyéther-imides utilisés pour la fabrication d'équipements électriques	Matériel d'installation électrique
Polycarbonate utilisé pour la fabrication de films transparents	Plaques, feuilles, bandes et lames, en matières plastiques, non munies d'un support, ni associées à d'autres matières
Polycarbonate utilisé pour la fabrication d'équipements de protection	Casques de sécurité et autres produits de sécurité
Polycarbonate, résines époxy, résines vinylesters, résines polyester insaturées utilisés pour la fabrication d'articles de sport	Articles de sport
Polycarbonate utilisé pour la construction de toits d'installations sportives	Installations sportives ou récréatives
Polycarbonate, résines époxy, résines vinylesters, résines polyester insaturées, polyols, résines polysulfones, résines polyéther-imides utilisés pour la fabrication d'articles automobile Bisphénol A utilisé dans la fabrication de fluides de freinage et de pneus	Véhicules automobiles (pneus, vitrages de sécurité, réflecteurs de lumière, optiques de phares, pare-chocs, grilles de radiateurs et de ventilation, dispositifs d'éclairage intérieur, pare-brises de motos et casques, modules de toit des voitures, etc.)
Polycarbonate, résines époxy, polyamide modifié, résines polysulfones, résines polyéther-imides utilisés dans les applications électriques et électroniques Tetrabromo bisphénol A utilisé dans les circuits imprimés	Produits informatiques, électroniques et optiques
Résines époxy, résines vinylesters utilisées dans les revêtements de sols (bâtiments)	Revêtements en matières plastiques, en rouleaux ou en dalles
	Linoléum et revêtements de sol durs à surface non plastique, revêtements de sol résilients tels que vinyle, linoléum, etc.

Utilisation	Catégorie d'articles ou de préparations susceptibles de contenir du BPA
Résines époxy utilisées dans les revêtements intérieurs de conserves et canettes	Contenant et emballage alimentaire
Résines époxy, résines vinylesters utilisées dans les revêtements de surface de contenant métallique	Réservoirs, citernes et conteneurs métalliques
Résines époxy utilisées dans les revêtements des tubes et canalisations	Tubes, tuyaux, profilés creux et accessoires correspondants en acier
Résines époxy utilisées dans la construction de panneaux métalliques	Panneaux-sandwichs en tôle d'acier revêtue
Résines époxy, résines vinylesters, résines polyester insaturées utilisées dans le béton ou les ouvrages en béton	Éléments / ouvrages en béton pour la construction
	Réseaux pour fluides
Résines époxy, résines phénoplastes utilisées pour la fabrication de colles, adhésifs...	Colle / adhésif / scellant / produits connexes
Résines époxy utilisées pour la fabrication de mastic	Mastic
Production de résines époxy	Résines
Résines époxy, bisphénol A éthoxylé utilisés pour la production d'encres	Produit d'impression et de reproduction
Résines phénoplastes, résines polyester insaturées, polyols, bisphénol A éthoxylé utilisés comme liants, plastifiants, durcisseurs pour les peintures, les laques et autres matières de remplissage	Peinture / vernis / émail / lasure et associés
Résines époxy, résines vinylesters, résines polyester insaturées, résines polysulfones, résines polyéther-imides utilisées dans la construction aéronautique	Constructions aéronautique et spatiale
Résines époxy, résines vinylesters, résines polyester insaturées utilisées dans la fabrication de bateaux	Navires et de structures flottantes
	Bateaux de plaisance
Résines époxy, résines phénoplastes utilisées dans la fabrication de panneaux de bois	Placage et panneaux de bois

Utilisation	Catégorie d'articles ou de préparations susceptibles de contenir du BPA
Résines époxy utilisées dans la fabrication d'outils	Outillage
Résines époxy, bisphénol A éthoxylé utilisés dans la fabrication de vernis	Vernis / vitrificateur bois parquet
	Vernis / vitrificateur bois parquet non hydrosoluble
Résines époxy utilisées pour la fabrication de fibres de verre	Fibres de verre
Résines vinylesters utilisées dans les supports de fibres optiques	Câbles de fibres optiques
Résines vinylesters utilisées dans les bouteilles de gaz	Conteneurs métalliques pour gaz comprimés ou liquéfiés
Résines phénoplastes utilisées en isolation	Produit d'étanchéité et d'isolation
Résines phénoplastes utilisées dans les abrasifs	Produit abrasif / polissage
Résines phénoplastes utilisées dans les matériaux de friction	Garnitures de friction pour freins, embrayages ou similaires
Résines phénoplastes utilisées dans l'industrie du papier Bisphénol A utilisé pour la fabrication de papier thermique	Papier et carton
Polyols utilisés dans la production de polyuréthane	Mousse de polyuréthane
Bisphénol A utilisé dans la fabrication de matériaux composites de restauration et de scellement à base de résine à usage dentaire	Adjuvants pour prothèse médicale (ciment, colle)
Bisphénol A utilisé dans la composition de lubrifiants	Lubrifiant
Bisphénol A utilisé dans la composition de fluides caloporteurs	Caloporteur

4.4 Usages identifiés via les industriels

Suite à l'enquête de filières commanditée par l'Anses, les secteurs d'activité identifiés ci-dessus ont été investigués. 42 entreprises se sont déclarées via l'enquête en ligne comme étant concernées par le bisphénol A, qu'elles soient productrices, importatrices, distributrices ou utilisatrices de la substance, d'un sous-ensemble d'articles ou de préparations contenant du

bisphénol A ou bien d'un article ou d'un sous article. Deux d'entre elles ont indiqué ne plus être concernées par le bisphénol A depuis leur réponse au questionnaire.

Il ressort des réponses du peu d'industriels ayant répondu, que le bisphénol A est utilisé dans des orthèses en carbone et dans des isolants pour câbles électriques, dans des résines, pour la fabrication de dérivés du bisphénol A. Une entreprise a indiqué que le bisphénol A était utilisé comme stabilisant dans la fabrication d'esters destinés au secteur automobile en tant que plastifiant du PVC.

4.4.1 Les orthèses

Aucune donnée sur les quantités mises sur le marché n'a été rapportée par l'entreprise concernée.

Le bisphénol A est utilisé pour la formulation de résines époxy entrant dans la fabrication d'orthèses en carbone externes (genouillère...).

Ces orthèses en carbone sont destinées à tous les âges, à partir de 3 ans.

L'entreprise a précisé qu'elle n'utilise pas la substance directement mais une résine époxy contenant du BPA. Elle fabrique des orthèses en carbone époxy pour des personnes handicapées, sur un appareil faisant en moyenne 600 g, qui est composé de 40 % de résine époxy en poids, soit 240 g de résine. La base de résine contenant du bisphénol A est à une concentration de 65 %, donc 156 g de base contenant du bisphénol A par appareil. Cette entreprise réalise environ 500 orthèses par an, soit 78 kg de base par an contenant du bisphénol A.

4.4.2 Les câbles

Le bisphénol A est utilisé dans des isolants pour câbles électriques, toutefois aucune information complémentaire n'a été fournie par l'industriel concerné.

4.4.3 Les esters

Le BPA est employé en tant que stabilisant dans la fabrication d'esters. Il joue le rôle d'antioxydant afin d'éviter le vieillissement du produit. Le BPA est ajouté à une concentration de 0,5 % en masse, à chaud et est ensuite dissout dans l'ester. Ces esters stabilisés au BPA sont utilisés en tant que plastifiant du PVC principalement dans le secteur automobile dans les tuyaux, plaques de tableaux de bord.... L'entreprise ayant répondu au questionnaire sur cet usage a indiqué ne plus utiliser de BPA aujourd'hui.

4.4.4 Les résines

Des résines contenant 20 % de bisphénol A/épichlorhydrine sont utilisées dans des revêtements de rétention pour l'étanchéité. L'industriel concerné n'a toutefois pas communiqué plus d'informations pour cet usage.

4.4.5 Les dérivés du bisphénol A

Le BPA est utilisé dans la fabrication de dérivés du bisphénol A. L'industriel ayant répondu n'a pas transmis d'avantages informations. Cette société a par ailleurs indiqué avoir stoppé l'usage du BPA depuis fin 2010.

Par ailleurs Néodyme a également contacté des fédérations professionnelles dont la liste est disponible en annexe.

Contact auprès des fédérations :

L'Association Club MCAS "Matériaux pour Contact Alimentaire et Santé", Filière papier-carton, partenaire de PROCELPAC, confirme l'utilisation de bisphénol A dans la fabrication de papier thermique.

Le Syndicat National de l'Industrie des Technologies Médicales (SNITEM) indique que le Bisphénol A est utilisé dans le secteur des dispositifs médicaux, notamment pour ses propriétés de résistance physique et chimique importantes, sa transparence (par exemple, pour des contenants, des coques de couveuses, etc.).

L'Union Française des Industries Pétrolières (UFIP) indique que le Bisphénol A est utilisé dans certaines formulations de fluides de freins (en concentration inférieure à 1%). Les fluides de freins sont vendus en station-service et en grande distribution et par conséquent au grand public. Les volumes écoulés dans ces canaux de vente doivent être très limités, la vidange des circuits de freins étant en général faite par les professionnels.

Le Centre Technique de la Teinture et du Nettoyage (CTTN) indique que les bisphénols peuvent être utilisés éventuellement dans les emballages des lessives grand public, mais pas dans leur formulation.

Le Centre Technique du Cuir (CTC) indique que les bisphénols ne sont pas utilisés dans l'industrie du cuir.

Le Centre Technique du Papier (CTP) indique que le bisphénol A peut éventuellement être retrouvé dans le process papetier dans le cas du recyclage des papiers thermiques qui en contiennent. Mais selon eux, le bisphénol A est de moins en moins utilisé dans les papiers thermiques.

Le Centre Technique Industriel de la Construction Métallique (CTICM) indique que les bisphénols peuvent être utilisés dans les durcisseurs des peintures.

5 Résultats de l'extraction d'autres bases de données

L'identification des produits de consommation a été complétée par l'extraction de base de données.

5.1 Extraction de la base nationale des produits et compositions (BNPC)

La base nationale des produits et composition a été interrogée en février 2011, permettant de lister les préparations chimiques pour lesquelles une déclaration a été faite auprès des Centres Antipoison entre 2000 et 2010.

Cette extraction a permis de faire émerger les préparations et/ou articles suivants :

Tableau 10 : Résultats de l'extraction de la BNPC (février 2011) – préparations utilisées par la population générale

Date composition	concentration (% massique)	Type de produit	Forme
Produits d'entretien de véhicules			
03/08/10	0,9	Entretien mécanique véhicule – liquide de frein	liquide

Tableau 11 : Résultats de l'extraction de la BNPC (février 2011) – préparations utilisées par la population professionnelle

Date composition	concentration (% massique)	Type de produit	Forme
Caoutchouc et plastique			
17/06/08	25	Additif pour caoutchouc et plastique	-
Produits d'entretien de véhicules			
03/02/06	0,3	Entretien mécanique véhicule	-
22/03/04	1	Entretien mécanique véhicule	liquide

Date composition	concentration (% massique)	Type de produit	Forme
		– liquide de frein	
03/02/06	0,3	Entretien mécanique véhicule	-
03/02/06	0,3	Entretien mécanique véhicule	-
25/08/09	0,1	Entretien mécanique véhicule	-
Colle / adhésif / scellant / produits connexes			
15/01/05	35	durcisseur pour colles	-
17/09/08	25	durcisseur pour colles	-
27/02/03	10	durcisseur pour colles	-

5.2 Extraction de la base de données SEPIA

La base de données Sepia de l'INRS concerne les préparations chimiques mises sur le marché français. Elle est alimentée par les déclarations obligatoires des préparations classées très toxiques, toxiques, corrosives ou biocides, par les informations fournies suite à une demande de l'INRS, et dans une moindre mesure, par des renseignements envoyés spontanément par les industriels.

La base de données SEPIA (INRS) a également été interrogée en octobre 2010. Cette base de données recense les préparations et articles déclarés par les industriels entre 2000 et 2010.

Tableau 12 : Résultats de l'extraction de la base SEPIA (octobre 2010)

Catégorie de préparations ou articles	Population cible	Intervalle de concentration (% massique)	Nombre de références
Produits pour le bâtiment	professionnelle	Entre <1 et 50 % massique	1
Produits pour caoutchouc et matières plastiques	grand public		10
Colles et produits connexes	grand public		7

Matières plastiques	grand public		2
Produits à usage métallurgique et mécanique	professionnelle		6
Divers (adjuvants)	professionnelle		8
Biocides	grand public		2
Peintures, vernis, encore d'imprimerie et produits connexes	grand public		6

L'extraction de la base de données SEPIA précise que la concentration massique en BPA est :

- comprise entre]20- 50%] pour 4 préparations
- comprise entre]5- 20 %] pour 11 préparations
- comprise entre]<1- 5 %] pour 16 préparations
- <1 % pour 14 préparations

6 Conclusion

Les résultats de l'enquête de filières sur les usages sont loin d'être exhaustifs au vu du faible taux de participation des industriels. Toutefois, le travail réalisé a montré qu'une très grande diversité d'usages, et donc de produits et articles, était susceptible de contenir du BPA.

Parallèlement, l'usage du bisphénol A dans de nombreux secteurs étant de plus en plus controversé, les recherches sur les substituts sont amorcées.

Les premiers éléments de recherche bibliographique montrent que les substituts sont toujours très spécifiques à une substance, un matériau, un usage, un procédé industriel. Ainsi dans le cas du bisphénol A, le verre ou le polypropylène peuvent être utilisés pour les biberons, alors que les bisphénol S ou M peuvent substituer le BPA dans les papiers thermiques.

Si la substitution du bisphénol A dans les polycarbonates est largement engagée pour les biberons, ce n'est pas le cas dans le secteur automobile où le BPA est encore très employé (dans les toits de voitures, les phares...). La substitution dans ce dernier domaine ne semble pas initiée.

Par ailleurs, la substitution du BPA dans certains matériaux est délicate car les substances de remplacement ne confèrent pas les mêmes propriétés techniques. En effet, certains secteurs tels que celui du secteur médical recherchent depuis de nombreuses années des substituts aux polycarbonates pour les dispositifs médicaux sans avoir obtenu de résultats concluants, selon une communication de Plastics Europe.

Les travaux se poursuivent de façon à identifier les substituants, afin d'établir une liste détaillée au regard de chaque usage identifié, et d'avoir un retour de la part des utilisateurs quant au succès ou non de la substitution mise en place, avec une investigation à l'échelle internationale. Ces résultats alimenteront la deuxième partie du rapport consacrée à l'évaluation des risques du BPA.

7 Références bibliographiques

Règlement REACH (CE) n° 1907/2006 du 18 décembre 2006 concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH), instituant une agence européenne des produits chimiques, modifiant la directive 1999/45/CE et abrogeant le règlement (CEE) no 793/93 du Conseil et le règlement (CE) no 1488/94 de la Commission ainsi que la directive 76/769/CEE du Conseil et les directives 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE et 2000/21/CE de la Commission (JOUE L396 du 30 décembre 2006).

Règlement (UE) no 10/2011 de la commission du 14 janvier 2011 concernant les matériaux et objets en matière plastique destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.

Ashford RD* (2001) 'Ashford's Dictionary of Industrial Chemicals.'

Commission européenne (CE) DG Environnement (2002) Endocrine Disrupters: study on gathering information on 435 Substances with insufficient data. Final report. RPS BKH Consulting Engineers, No. B4-3040/2001/325850/MAR/C2 (RPS BKH Consulting Engineers, Delft)

Commission européenne (CE) Joint Research Centre (2003a) European Union Risk Assessment Report. 4,4'-Isopropylidenediphenol (Bisphenol-A). Office for Official Publications of the European Communities, No. EUR 20843 EN (Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg)

Commission européenne* (CE) (2003b). Document de référence sur les meilleures techniques disponibles pour l'industrie des composés organiques à grand volume de production.

Commission européenne (CE) Joint Research Centre (2010a) European Union Risk Assessment Report - Environment Addendum of April 2008 - 4,4'-ISOPROPYLIDENEDIPHENOL (Bisphenol-A) - Part 1 Environment. Publications Office of the European Union, JRC Scientific and Technical Reports (EUR collection) No. EUR 24588 EN (Publications Office of the European Union, Luxembourg)

Commission européenne (CE) Joint Research Centre (2010b) European Union Risk Assessment Report - Complete risk assessment in one document, February 2010 - 4,4'-ISOPROPYLIDENEDIPHENOL (BISPHENOL-A) Final approved version awaiting publication.

DHI Water & Environment (DHI) (2007) Study on enhancing the Endocrine Disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals. DHI, No. ENV.D.4/ETU/2005/0028r (DHI, Horsholm)

European Chemicals Agency (ECHA) (2009). Agence européenne des produits chimiques. List of pre-registered substances.

Fédération de la Plasturgie* (2010). Site internet de la Fédération de la Plasturgie - [base de données en ligne]. Date de consultation. 1-9-2010.

Fédération de la Plasturgie, Plastics Europe, Elipso (2011) Point de situation sur les produits à base de bisphénol A. Note de position communiquée aux Ministères, (Note de position communiquée aux Ministères)

Fiche technique* (2008) Fiche technique Photomer (R) 4028F. Cognis.

Geens T, Goeyens L, Covaci A (2011) Are potential sources for human exposure to bisphenol-A overlooked? *Int J Hyg Environ Health*. A paraître

Horikoshi S, Miura T, Kajitani M, Horikoshi N, Serpone N (2008) Photodegradation of tetrahalobisphenol-A (X=Cl, Br) flame retardants and delineation of factors affecting the process. *Applied Catalysis B: Environmental* **84**, 797-802.

IDES*. IDES - The Plastics Web® [base de données en ligne]. En ligne : <http://www.ides.com/> Date de consultation. 1-9-2010.

Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) (2010). Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Le Bisphénol A. Rapport d'étude. N°INERIS-DRC-10-109972-01125C. Version juin 2010 puis mise à jour septembre 2010 (non publiée). (Ineris, Verneuil-en-Halatte)

Institut national de recherche et de sécurité* (INRS) (2005). Inventaire des agents CMR [base de données en ligne]. En ligne : http://chat.inrs.fr/cmvr/publigen_cmrv2.nsf [Date de consultation non renseignée par le prestataire].

Institut national de recherche et de sécurité* (INRS) (2006). Matières plastiques & adjuvants - Hygiène et sécurité. R. Fahri, C. Morel, J. Chéron, No. ED 638. R. Fahri, C. Morel, J. Chéron (INRS, Paris)

Institut national de recherche et de sécurité* (INRS) (2010) Fiche toxicologique FT 279 - Bisphénol A. INRS, (INRS, Paris)

Institut national de la santé et de la recherche médicale* (Inserm) (2011) Reproduction et environnement. Expertise collective. Inserm, (Inserm, Paris)

Lewis* RJ (2007) 'Hawley's Condensed Chemical Dictionary.'

Merck* (2006) The Merck Index - 14ème edition. pp. 211-212.

Plastics Europe (2007). Application of Bisphenol A : Bisphenol A in Europe. En ligne : <http://www.bisphenol-a-europe.org/uploads/BPA%20applications.pdf> [date de consultation : mai 2011]

Santé Canada* (2008) Évaluation préalable finale pour le défi concernant le Phénol, 4,4-(1-méthyléthylidène)bis (Bisphenol-A). Santé Canada, (Santé Canada, Ottawa)

Santé Canada* (2010a). Questions et réponses concernant les mesures prises à l'égard du Bisphénol A dans le cadre du Plan de gestion des produits chimiques - Page Web. En ligne : http://www.chemicalsubstanceschimiques.gc.ca/fact-fait/Bisphénol-a_qa-qr-fra.php [Date de consultation non renseignée par le prestataire] Date de modification. 4-2-2010.

Santé Canada* (2010b). Santé Canada - Aliment et Nutrition> Salubrité des aliments > Matériaux d'emballage > Bisphénol A - Page Web. En ligne : <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/package-emball/bpa/index-fra.php> [Date de consultation non renseignée par le prestataire] Date de modification. 26-8-2010.

Société des plastiques industriels compressés. Fiche Polysulfone (PSU) - Date non spécifiée.

Techniques de l'ingénieur* (1991) Phénoplastes ou phénols-formols PF. Référence AR3435. Chevalier M.

Techniques de l'ingénieur* (1992) Traité Plastiques et Composites. Résines époxydes. Bardonnnet P.

Techniques de l'ingénieur* (2003) Résines vinylesters. Référence AM3450. Schneider G.

Techniques de l'ingénieur* (2004) Polyesters insaturés UP. Référence AM3445. Jannel J.C.

Techniques de l'ingénieur* (2007) Polycarbonates. Référence AM338. Dumont J.M.

US National Library of Medicine* (2008). Hazardous Substances Data Bank (HSDB) - TOXNET Database [base de données en ligne]. En ligne : <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> Date de dernière révision. 1-10-2008.

ANNEXES

Annexe 1 : Lettres de saisines



Ministère de la santé et des sports

Le Directeur général de la santé

EA4 N° 220

Paris, le - 4 JUIN 2009

COURRIER REÇU LE

0 8 JUIN 2009

2186

Monsieur le directeur général
Agence française de sécurité sanitaire
de l'environnement et du travail
253, avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex

Objet : Substances reprotoxiques et perturbateurs endocriniens.

N/Réf : 090018 (numéro de dossier à rappeler dans toute correspondance)

Les données scientifiques semblent mettre en évidence dans les pays industrialisés une baisse de la fertilité chez l'homme depuis une vingtaine d'années. Ces évolutions préoccupantes sont souvent attribuées à la pollution chimique de notre environnement.

L'action de certaines substances chimiques sur la reproduction ou sur les organes de la reproduction peut être due soit à une action directe reprotoxique qui peut affecter l'adulte, le jeune enfant, l'embryon ou le fœtus lors de son développement prénatal, soit à une action hormono-mimétique (« oestrogen- ou androgen-like ») lorsque ces substances sont des perturbateurs endocriniens.

Dans ce contexte de préoccupations tant pour le public que pour les autorités sanitaires, j'ai saisi l'INSERM pour la réalisation d'une expertise collective visant notamment à répertorier sous six mois les substances reprotoxiques préoccupantes, à décrire les différents effets reprotoxiques sur le développement ou la fertilité connus et leurs mécanismes, à analyser les facteurs de risque chez l'enfant et l'adulte en identifiant en particulier les périodes de la vie les plus sensibles en termes d'exposition et à analyser les tests *in vitro* et *in vivo* actuellement mis en œuvre, au niveau réglementaire ou au stade de la recherche, pour détecter ces effets. L'AFSSET est associée à cette expertise.

Sur la base de la liste des substances reprotoxiques établie dans le cadre de cette expertise de l'INSERM, je souhaite que vous poursuiviez dans votre champ de compétence ces travaux d'expertise afin de déterminer s'il existe aujourd'hui des produits destinés au grand public contenant de telles substances, de quantifier leurs utilisations, les niveaux d'exposition qui en résultent et de procéder à une évaluation bénéfice/risque. L'AFSSA et l'AFSSAPS seront saisies de la même manière dans leur champ de compétence.

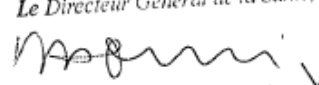
Je souhaite par ailleurs que votre agence assure la coordination générale des travaux de ces différents organismes afin de produire une évaluation globale des expositions et des risques et

de proposer, si nécessaire, le renforcement de certaines préconisations d'usage. A cet effet, vous voudrez bien en particulier, parmi ces produits :

- Identifier ceux d'entre eux contenant ces substances ou susceptibles d'être concernés ;
- Sélectionner ceux à étudier en priorité ;
- Analyser et si possible quantifier des voies d'exposition de la population générale à ces substances en précisant les sources directes et indirectes, et incluant des populations vulnérables et les personnes en milieu de travail ;
- Envisager des substitutions.

S'agissant du domaine des résidus de médicaments dans les eaux, je vous indique qu'il a déjà fait l'objet de ma part d'une demande d'expertise auprès de l'AFSSA et de l'AFSSAPS. Par ailleurs, un plan d'actions relatif aux résidus médicamenteux dans les milieux est en cours d'élaboration conjointement par la Direction Générale de la Santé et la Direction de l'Eau et de la Biodiversité du MEEDDAT. Si une saisine est nécessaire sur ce thème, elle sera élaborée en concertation entre les deux ministères en cohérence avec le plan d'action sus mentionné.

Le Directeur Général de la Santé,



Pr Didier HOUSSIN



MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE, DE
L'ÉNERGIE, DU
DÉVELOPPEMENT DURABLE
ET DE LA MER,
en charge des Technologies
vertes et des Négociations sur
le climat

Direction générale de la
prévention des risques



→ Acad
Signalé

Paris le

18 FEV. 2010

Le Directeur général de la prévention des
risques

à

Monsieur le Directeur général de
l'Agence Française de Sécurité Sanitaire
de l'Environnement et du Travail
253 Avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort

Objet : Bisphénol A
Copie : DGS, DGAL, DGT, DGCCRF, AFSSA, INERIS

Le bisphénol A fait l'objet d'une attention particulière au niveau international en raison de la publication régulière de nouvelles études relatives aux effets sur la santé dans des revues spécialisées. La sensibilité des enfants et des femmes enceintes et le caractère perturbateur endocrinien du bisphénol A suscitent ainsi des inquiétudes au sein de la population et de la communauté scientifique.

Au vu de ces informations scientifiques complémentaires et des démarches engagées par les autorités de divers pays (Japon, Norvège, Canada), il nous semble pertinent d'approfondir la réflexion sur les risques encourus pour la santé et l'environnement.

Le bisphénol A est utilisé pour la fabrication de polycarbonates utilisés dans de nombreux plastiques, dans la fabrication de différentes résines et d'ignifugeants. De plus le bisphénol A est utilisé, entre autres, en tant qu'additif dans les retardateurs de flammes et comme révélateur dans les papiers thermiques.

Dans ce cadre, je vous demande d'engager des travaux portant sur les risques sanitaires résultant d'une exposition de l'homme au bisphénol A via l'environnement. Je vous demande ainsi de bien vouloir, en lien avec l'AFSSA :

- transmettre une synthèse des dangers présentés par le bisphénol A à partir notamment d'une revue des études publiées depuis le rapport d'évaluation des risques présenté au niveau communautaire par Le Royaume-Uni en février 2008 dans le cadre du règlement

793/93 et le dossier Annexe XV transitoire soumis au 1^{er} décembre 2008, de faire un bilan des connaissances multidisciplinaires en la matière et identifier les éventuelles lacunes; pour réaliser ce travail, vous pourrez utilement prendre l'attache du président du comité scientifique du programme de recherche sur les perturbateurs endocriniens pour identifier les scientifiques qui peuvent utilement y contribuer ;

- identifier les usages conduisant à une exposition humaine et caractériser ces situations d'exposition ;
- identifier les substituts au bisphénol A ainsi que les données disponibles sur les dangers présentés par ces substituts.

Vous pourrez également vous rapprocher de l'Ineris qui, à la demande de l'Onema, a engagé un travail sur les données de production et d'utilisation du bisphénol A, les rejets et le devenir de cette substance dans l'environnement, ainsi que les perspectives de substitution et de réduction des émissions.

En fonction des informations recueillies lors de cette première phase, vous voudrez bien analyser la faisabilité et la pertinence d'une évaluation des risques sanitaires liés aux différents modes d'exposition et à partir des données disponibles.

Il me paraît souhaitable que cette molécule fasse l'objet d'une attention particulière de votre agence lors des travaux sur les perturbateurs endocriniens engagés au niveau national avec l'Inserm.

A la lumière de ces travaux, vous formulerez si nécessaire des recommandations, notamment pour la prise en compte du bisphénol A dans le cadre du règlement (CE) n°1907/2006 dit règlement REACH. Une analyse de la procédure la plus pertinente (inscription dans le premier plan d'action communautaire pour évaluation, préparation d'un dossier de restriction, de classification et d'étiquetage harmonisés ou d'identification de substance extrêmement préoccupante en vue de son inscription à l'annexe XIV) devra notamment être conduite en tenant compte des outils de gestion prévus par d'autres réglementations sectorielles.

Enfin, je vous remercie de bien vouloir dresser un bilan des recherches en cours concernant le bisphénol A ou ses substituts et d'en tirer d'éventuelles recommandations relatives aux domaines à investiguer en priorité.

Le Directeur général de la
prévention des risques



Laurent MICHEL

Annexe 2 : Liste des fédérations contactées pour l'enquête sur les perturbateurs endocriniens

AIMCC : Association des industries de produits de construction
ALUTEC : Association lunetière technologique
APST-BTP-RP Santé au travail
Association syndicale professionnelle minéraux industriels
ATILH : Association technique de l'industrie les liants hydrauliques
Centre technique du cuir
Chambre syndicale des fabricants de sacs en papier
CICF : Confédération des industries céramiques et France
Cimbéton
COMIDENT : Comité de coordination des activités dentaires
COPACEL : Confédération française de fabricants de papiers, cartons
CTICM : Centre technique industriel de la construction
CTIF : Centre technique des industries de la fonderie
CTP : Centre technique du papier
CTTN-IREN : Centre technique de la teinture et du nettoyage – Institut de recherche sur l'entretien et le nettoyage
Elipso : Les entreprises de l'emballage plastique et souple
FIPEC : Fédération des peintures, encres, couleurs, colles et adhésifs
FCBA : Institut technologique bois
Fédération de l'horlogerie
Fédération de la plasturgie
Fédération des chambres syndicales de l'industrie du verre
Fédération française des industries du jouet et de la puériculture
Fédération française du bâtiment
Fédération française du cartonnage
FFC : Fédération française de la chaussure
FICG : Fédération de l'imprimerie et de la communication graphique
FIEEC : Fédération des industries électriques, électroniques et communication
FIEV : Fédération des industries des équipements pour véhicules
FIF : Fédération des industries ferroviaires
GESIM : Groupement des entreprises sidérurgiques et métallurgiques
GIFAS : Groupement des industries françaises aéronautiques et spatiales
GIFO : Groupement des industriels et fabricants de l'optique
IFTH : Institut français du textile et de l'habillement
Institut du verre
ONDEF : L'emballage ondulé de France
PlasticsEurope
PROCELPAC - Association club MCAS « Matériaux pour contact alimentaire et santé » : Filière papier- carton
SCMF : Syndicat de la construction métallique de France
SFIC : Syndicat français de l'industrie cimentière
SFP : Société française des parfumeurs
SFTAS : Syndicat français des textiles artificiels et synthétiques
SNFBM : Syndicat national des fabricants de boîtes, emballages et bouchages métalliques
SNFORES : Syndicat national des formulateurs de résines synthétiques
SNITEM : Syndicat national de l'industrie des technologies médicales
Syndicat national du caoutchouc et des polymères
UCAPLAST : Union des syndicats des PME du caoutchouc et de la plasturgie
UFIP : Union française des industries pétrolières

UIB : Union des industries du bois

UIC : Union des industries chimiques

UIMM : Union des industries et métiers de la métallurgie

UIPP : Union des industries des panneaux de process

UIT : Union des industries textiles

UNFEA : Union nationale des fabricants d'étiquettes adhésives

UNIFA : Union nationale des industries françaises de l'ameublement

UNIPAS : Union des industries papetières pour les affaires sociales

Notes



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr