

Exposition anténatale au Triclosan ; distance anogénitale

Patrick THONNEAU | thonneaupatrick@yahoo.fr

Inserm, EA 3694, Toulouse

Mots clés : **Distance anogénitale, exposition androgénique, exposition intra-utérine, malformations uro-génitales, mesures anthropométriques, perturbateurs endocriniens, Triclosan**

Le Triclosan est un produit biocide utilisé comme antibactérien et antifongique dans de nombreux produits de consommation courante, comme dans certaines pâtes dentifrices, bains de bouche, désinfectants et savons. Plusieurs études menées *in vitro* et chez l'animal ont mis en avant les propriétés de perturbateur endocrinien du Triclosan, en particulier des activités anti-androgéniques et anti-oestrogéniques selon les espèces, les tissus et les types cellulaires (1-4).

Chez l'humain, des études ont montré la présence de Triclosan à des niveaux détectables chez la femme enceinte ainsi que dans le liquide amniotique, indiquant un passage du Triclosan dans le compartiment fœtal (5). La période de la vie fœtale, et tout particulièrement celle correspondant à la mise en place et au développement du système reproducteur masculin, est considérée comme une période particulièrement vulnérable en cas d'exposition à des composés chimiques présentant des propriétés perturbatrices endocriniennes (6-7).

La distance anogénitale (AGD en Anglais pour *anogenital distance*) est un indicateur de l'imprégnation androgénique (testostérone) et il a été démontré, chez le rongeur, une réduction de cette distance anogénitale lors de production insuffisante de testostérone aux premiers stades du développement embryonnaire (8).

La première étude retenue dans cette note a comme objectif d'examiner l'association entre le niveau d'exposition maternelle au Triclosan et la mesure de la distance anogénitale ainsi que des principales mesures anthropométriques du nouveau-né à la naissance, poids, circonférences crânienne et abdominale, longueur de la verge.

La distance anogénitale est une mesure fréquemment utilisée chez l'animal et dans une moindre mesure chez l'humain, comme indicateur d'imprégnation androgénique. Si la mesure de la distance anogénitale semble être fiable, reproductible et relativement facile à effectuer chez les rongeurs, elle demeure bien plus complexe à réaliser et à interpréter chez le nouveau-né ou chez le très jeune enfant. Chez l'humain, une réduction de la distance anogénitale a été observée en cas de malformations congénitales, cryptorchidie et hypospadias. Plusieurs publications ont aussi récemment suggéré que des expositions prénatales au Bisphénol A et aux phtalates entraîneraient une réduction de la distance anogénitale, ces résultats ayant été toutefois remis en question par plusieurs auteurs (9, 10).

Dans cette note, la seconde étude abordera, chez l'humain, la comparabilité et la reproductibilité de la mesure de cet indicateur dans une série de 70 patients.

Exposition prénatale au Triclosan et mesures anthropométriques incluant la distance anogénitale chez des nouveau-nés danois

Lassen TH. et al. (2016). Prenatal triclosan exposure and anthropometric measures including anogenital distance in Danish infants. *Environmental Health Perspectives*, vol.124(8): p1261-1267.

Résumé

Dans le cadre d'une cohorte danoise, des échantillons d'urines ont été prélevés chez 514 femmes enceintes à la 28^{ème} semaine de grossesse en vue d'un dosage du Triclosan, réalisé par chromatographie et spectrométrie de masse. Des analyses statistiques de régression multiple ont été menées afin d'examiner les associations entre la teneur en Triclosan exprimée en quartiles (taux de Triclosan ajusté selon l'osmolarité urinaire) et certaines mesures anthropométriques des nouveau-nés (garçon et fille) à la naissance (poids, taille, circonférence crânienne et abdominale), ainsi que sur la distance anogénitale à 3 mois d'âge (pour une médiane égale à 3,3 mois et une distribution allant de 2,3 à 6,7 mois), et enfin sur la longueur de la verge.

La présence de Triclosan dans les urines maternelles a été retrouvée chez 83% des femmes, avec une valeur médiane de Triclosan égale à 0.88 ng/ml, pour un 95^{ème} percentile égal à 428ng/ml et une valeur maximale de 2,6 mg/ml. Les résultats montrent que les nouveau-nés garçons ayant un taux de Triclosan situé dans le quartile le plus élevé ont une circonférence crânienne significativement inférieure de 0,7 cm aux nouveau-nés garçons situés dans le quartile le plus bas ($p=0.01$). Une association inverse, non statistiquement significative ($p<0.10$), est aussi notée entre les taux les plus élevés de Triclosan et une réduction de la circonférence abdominale à la naissance, ainsi qu'avec une réduction de la distance anogénitale mesurée à 3 mois.

Aucune différence n'a été retrouvée pour les nouveau-nés filles pour les différentes valeurs de Triclosan et l'ensemble des indicateurs mesurés (poids, taille, circonférence crânienne et abdominale, distance anogénitale).

Les auteurs concluent en mettant en avant l'association entre l'exposition prénatale au Triclosan et une réduction de la circonférence crânienne (association statistiquement significative); les auteurs avancent aussi une possible association entre l'exposition prénatale au Triclosan et d'une part une réduction de la circonférence abdominale à la

naissance, et d'autre part avec une réduction de la distance anogénitale à l'âge de 3 ans (tout en notant que ces derniers résultats sont non statistiquement significatifs et qu'ils concernent uniquement les nouveau-nés garçons)

En conclusion, les auteurs évoquent la plausibilité d'un rôle anti-androgénique du Triclosan, tout en soulignant l'importance de reproduire ce type d'études.

Commentaire

Si plusieurs études ont déjà été publiées sur les conséquences de l'exposition prénatale aux phtalates, dont les malformations congénitales de l'homme, assez peu de travaux ont été consacrés au Triclosan. Une étude française récente n'a pas montré de différences significatives pour la réduction de la circonférence crânienne chez des nouveau-nés ayant été potentiellement exposés au Triclosan lors de la période per-gravidique (12).

Cette étude est l'une des premières visant à évaluer les conséquences d'expositions prénatales au Triclosan sur les données anthropométriques des nouveau-nés à la naissance (poids, taille, circonférences crânienne et ombilicale) et sur la mesure de la distance anogénitale (13).

La méthodologie adoptée par cette équipe de recherche reconnue au niveau international est de bonne qualité, avec toutefois certaines limites. D'une part, une limitation importante est liée à l'utilisation d'une mesure urinaire unique du Triclosan ce qui ne permet pas d'avoir une idée précise du niveau d'exposition au Triclosan, a fortiori avec un dosage effectué à la 28^{ème} semaine de grossesse et à un moment où les processus de mise en place des organes urogénitaux sont déjà largement amorcés. D'autre part, on note des écarts considérables dans les valeurs observées pour le Triclosan: la limite de détection (LOD) inférieure au 5^{ème} percentile, 428 ng/mL pour le 95^{ème} percentile et 2,6 mg/mL pour la valeur maximale observée ; tout cela avec une valeur médiane de 10.88 ng/mL.

Une seconde limite tient dans l'utilisation de deux mesures de la distance anogénitale, d'une part une distance dite « courte » allant du centre de l'anus à la base postérieure du scrotum, et une distance dite « longue » allant du centre de l'anus à l'insertion céphalique du pénis. Aucune discussion n'est véritablement proposée par les auteurs sur la validité, sur la fiabilité et la reproductibilité de ces deux mesures de la distance anogénitale, alors que l'utilisation de cet indicateur chez l'humain reste très controversée (9,10).

De plus, les tableaux statistiques présentés par les auteurs pour cet indicateur ne montrent pas de tendance statistique en faveur d'une association entre l'exposition au Triclosan et une réduction de la ou des distances anogénitales. Ainsi, pour la mesure de la distance anogénitale dite « courte », on retrouve une valeur du p de tendance (p-trend) de 0,08, et de 0,07 pour le p en « continu ». Pour la mesure de la distance anogénitale dite « longue », on retrouve une valeur du p de tendance (p-trend) de 0,11, et de 0,05 pour le p en « continu ».

Par ailleurs, le seul résultat statistiquement significatif de cette étude porte donc sur une réduction de la circonférence crânienne, inférieure à 0,7 cm, chez les nouveau-nés garçons situés dans le quartile le plus bas par rapport à ceux situés dans le quartile le plus élevé (p=0,01). Des résultats qui

n'avaient pas été trouvés dans les deux études précédentes portant sur le Triclosan (4, 8).

Tout en soulignant le possible rôle anti-androgénique du Triclosan lors d'expositions prénatales, les auteurs eux-mêmes suggèrent, d'une part que l'utilisation de plusieurs tests statistiques pourrait avoir généré des résultats plus liés au hasard qu'aux expositions réelles, et d'autre part que le faible taux de participation (43%) des femmes enceintes éligibles pourrait avoir entraîné un possible biais de sélection, et qu'enfin d'autres facteurs chimiques d'exposition concomitants voire de modes de vie pourraient avoir interféré avec les résultats.

En accord avec la phrase de conclusion des auteurs de cette étude, d'autres études complémentaires doivent être menées, en veillant à minimiser autant que faire se peut, les facteurs de confusion dans les diverses sources d'expositions environnementales.

Comparabilité et reproductibilité de la distance anogénitale chez l'adulte.

Mendiola J. et al. (2016). Comparability and reproducibility of adult male anogenital distance measurements for two different methods. *Andrology*, vol.(4):p 626-31

Résumé

Afin d'évaluer la comparabilité et la reproductibilité de la mesure de la distance anogénitale, considérée comme un bon indicateur de l'imprégnation androgénique survenue au cours de la période embryonnaire, deux types de mesures de la distance anogénitale ont été effectuées et répétées par plusieurs enquêteurs, auprès de 70 hommes admis dans un service d'urologie, essentiellement pour des pathologies prostatiques.

Deux distances anogénitales ont été étudiées : d'une part la distance allant de l'anus à la base postérieure basse du scrotum et, d'autre part, la distance allant de l'anus à la partie céphalique de l'insertion de la verge. Deux méthodes ont été utilisées pour évaluer ces distances anogénitales, la première méthode où l'homme est positionné sur une table d'examen de type table gynécologique avec des étriers et les jambes à 45°, la seconde méthode où l'homme est allongé sur un lit d'examen avec les jambes écartées. En pratique, deux examinateurs ont mesuré chacune de ces deux distances anogénitales à trois reprises et pour chacune des deux positions, soit un total de 24 mesures par individu. Malgré certaines différences observées entre les deux méthodes pour la mesure de la distance allant de l'anus à la base postérieure basse du scrotum, l'ensemble des résultats montrent que les deux méthodes de mesure sont comparables et reproductibles. Aucune différence n'a été observé entre les examinateurs, ni d'interactions entre les examinateurs et les deux méthodes utilisées. Les auteurs concluent en conseillant d'utiliser l'une ou l'autre de ces deux méthodes de mesure de la distance anogénitale, en fonction de la disponibilité du matériel d'examen et de l'expérience des cliniciens.

Commentaire

Actuellement il n'existe pas de « gold standard » dans la mesure de la distance anogénitale chez l'humain et cette

étude est la première à avoir proposé une méthodologie comparative à la fois sur les deux types de distances anogénitales connus, et aussi sur les deux modalités techniques concrètes de mesure. Globalement, les auteurs indiquent une assez bonne concordance des deux méthodes de mesures même si la distance allant de l'anus à la base postérieure basse du scrotum est différente entre les deux méthodes.

Toutefois, les deux méthodes proposées demeurent toujours extrêmement sensibles aux positions exactes prises par les hommes lors de l'examen, rendant les résultats peu comparables entre des études menées dans des sites et par des expérimentateurs différents.

Enfin, une limite majeure de ce travail tient au fait que les mesures ont été faites sur des hommes adultes, consentants et acceptant de se conforter aux positions liées aux deux méthodes de mesure, ce qui est bien différent lorsque la distance anogénitale est mesurée chez des nouveau-nés (cette mesure anogénitale ayant été proposée chez le nouveau-né par plusieurs auteurs pour évaluer les conséquences de défaut d'imprégnation androgénique lors d'expositions embryonnaires à des perturbateurs endocriniens).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans un contexte de préoccupation croissante de santé publique sur l'évaluation des conséquences de l'exposition à des perturbateurs endocriniens sur la santé humaine et tout particulièrement sur la santé reproductive, ce travail de recherche de très bonne qualité scientifique sur le Triclosan, n'apporte pas de conclusion majeure et irréfutable.

Si la présence du Triclosan dans les différents tissus humains et dans le liquide amniotique semble avoir été démontrée, ainsi que les effets anti-androgéniques et anti-oestrogéniques de ce composé dans la sphère animale, cette étude épidémiologique ne permet pas de conclure que l'exposition prénatale au Triclosan modifie significativement la distance anogénitale du nouveau-né masculin ; la réplication d'une telle étude avec des dosages urinaires et sanguins répétées, associés à des mesures complètes de la sphère reproductive masculine, distance anogénitale mais aussi cryptorchidie, hernie inguinale et hypospadias, demeure donc importante et nécessaire. Ainsi, la distance anogénitale, à l'image des résultats obtenus chez l'animal, pourrait être chez l'humain, une indication de l'imprégnation androgénique survenue lors de la phase embryonnaire. Facile à effectuer, fiable et reproductible chez les rongeurs où cet indicateur est un reflet d'expositions environnementales de type perturbateurs endocriniens, la mesure de la distance anogénitale chez l'humain souffre toujours de difficultés dans la précision de mesure, limitant d'autant son utilisation et son interprétation.

Dans la seconde étude de cette note, la distance anogénitale a été mesurée dans une population d'hommes adultes, avec des résultats montrant que les deux méthodes suggérées sont comparables et reproductibles, même si certaines différences ont été observées pour la mesure de la distance allant de l'anus à la base postérieure basse du scrotum. Toutefois, les deux méthodes de mesure investiguées demeurent encore très liées aux positions exactes prises par les hommes lors de l'examen, rendant les résultats peu comparables pour des études menées sur des sites et par des expérimentateurs différents (14).

GENERAL CONCLUSION

In a context of growing concern in terms of public health on the assessment of consequences of exposure to endocrine disruptors on human health and particularly reproductive health, this research of high scientific quality of Triclosan, led by a US-Danish team of renowned and recognized in the field, does not bring major and irrefutable conclusion.

If the presence of Triclosan in various human tissues and amniotic fluid appears to have been demonstrated, as well as anti-androgenic and anti-estrogenic effects of this compound in the animal sphere, this epidemiological study did not allow to conclude that prenatal exposure to Triclosan significantly alter the anogenital distance newborn male; Replication of such a study with repeated blood and urine assays, combined with comprehensive measures of male reproductive sphere, as also anogenital distance cryptorchidism, hypospadias and inguinal hernia, therefore remains important, urgent and necessary.

The distance from the genitals to the anus, anogenital distance, reflects androgen concentration during prenatal development in mammals. The use of anogenital distance in human studies is still very limited and the quality and consistency of measurements is an important methodological issue. The aim of this study was to assess the feasibility and reproducibility of adult male anogenital distance measurements by two different methods.. Two variants of anogenital distance, from the anus to the posterior base of the scrotum and to the cephalad insertion of the penis by two methods, were assessed. The two methods produced similar values, and both methods are internally consistent and adequate for epidemiological studies, and may be used depending on the available medical resources, clinical setting, and populations. In conclusion, the anogenital distance is a useful biomarker of androgen exposure during the critical embryonic window of testis development; anogenital distance is very often used in studies conducted in rodents exposed to chemical environments. However, the link between anogenital distance and androgen exposure in humans is not well-defined. Even several studies showed relationships between reduction in anogenital distance and its disorders in human remains the difficulty to have a reliable and valid assessment of this outcome, due to a lack of standardization in the measurement.

Lexique

Œstradiol : hormone féminine de la famille des œstrogènes.
Perturbateur endocrinien (PE) : molécule qui mime, inhibe ou modifie l'action d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme.

Triclosan : le 5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol est un biocide (pesticide organochloré proche des chlorophénols) qui possède des propriétés antifongiques et antibactériennes à large spectre. Utilisé depuis les années 1970, tout d'abord pour le lavage chirurgical des mains, son usage s'est étendu à partir de 1990 et jusqu'en 2010 dans de nombreux produits, savons, déodorants, dentifrices, solutions hydro-alcooliques., ustensiles de cuisine, jouets, literie, sacs poubelles, chaussettes anti-odeurs, éponges, etc.

Publications de référence

- 1 Gee RH, Charles A, Taylor N, Darbre PD.** Oestrogenic and androgenic activity of triclosan in breast cancer cells. J Appl Toxicol. 2008 Jan; **28(1)**:78-91.
- 2 Jung EM, An BS, Choi KC, Jeung EB.** Potential estrogenic activity of triclosan in the uterus of immature rats and rat pituitary GH3 cells. Toxicol Lett. 2012; **25**; **208(2)**:142-148.
- 3 Axelstad M, Boberg J, Vinggaard AM, Christiansen S, Hass U.** Triclosan exposure reduces thyroxine levels in pregnant and lactating rat dams and in directly exposed offspring. Food Chem Toxicol 2013; **59**: 534-540.
- 4 Kumar V, Chakraborty A, Kural MR, Roy P.** Alteration of testicular steroidogenesis and histopathology of reproductive system in male rats treated with triclosan. Reprod Toxicol 2009; **27**: 177-185.
- 5 Casas L, Fernandez MF, Llop S, Guxens M, Ballester F, Olea N et al.** Urinary concentration of phthalates and phenols in a population of Spanish pregnant women and children. Environ Int 2011; **37**: 858-866.
- 6 Philippat C, Botton J, Calafat AM, Charles MA, Slama R et al.** Prenatal exposure to phenols and growth in boys. Epidemiology 2014; **25**:625-635.
- 7 MacLeod DJ, Sharpe RM, Welsh M, Fiskens M, Scott HM, Hutchison GR et al.** Androgen action in the masculinization programming window and development of male reproductive organs. Int J Androl 2010; **33**:279-287.
- 8 Welsh M, Saunders PT, Fiskens M, Scott HM, Hutchison GR, Smith LB, et al.** Identification in rats of a programming window for reproduction tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. J Clin Invest 2008; **118**:1479-1490.
- 9 Dean A, Sharpe R.** Anogenital distance or digit length ratio as measures of fetal androgen exposure: relationship to male reproductive development and its disorders. J Clin Endocrinol Metab 2013; **98**: 2230-2238.
- 10 Swan SH, Sathyanarayana S, Brret ES, Jansen S, Liu F, Nguyen RH, et al.** First trimester phthalate exposure and anogénitale distance in newborns Hum Reprod 2015; **30**:963-972.
- 11 MacLeod DJ, Sharpe RM, Welsh M, Fiskens M, Scott HM, Hutchison GR et al.** Androgen action in the masculinization programming window and development of male reproductive organs. Int J Androl 2010; **33**:279-287.

12 Wolff MS, Engel SM, Berkowitz GS, Ye X, Silva MJ, Zhu C, et al. Prenatal phenol and phtalate exposures and birth outcomes. *Environ Health Perspect* 2008; **116**:1092-1097.

13 Wolff CJ, LeBlanc GA & Gray LE. Interactive effects of vinclozolin and testosterone propionate on pregnancy and sexual differentiation of the male and female SD rat. *ToxicolSci*2004;**78**:135-143.

14 Bornehag CG, Carlstedt F, Jonsson BA, Lindh CH, Jensen TK, Bodin A, Jonsson C, Janson S, Swan SH. Prenatal phtalates exposures and anogenital distance in Swedish boys. *Environ Health Perspect* 2015;**123**:101-107.

Revue de la littérature

Welsh M. et al. (2008). Identification in rats of a programming window for reproduction tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. *J. Clin. Invest*, vol.118: p1479-1490

Aha K-C. et al. (2008). *In vitro* biologic activities of the antimicrobials triclocarban, its analogs, and triclosan in bioassay screens: receptor-bases bioassay screens. *Environ Health Perspect*, vol.116: p1203-1210.

Dann B. et al. (2011). Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanism of action. *J.Appl.Toxicol*, vol. 31: p 285-311.

Fowler P-A. et al. (2016). Human anogenital distance: an update on fetal smoke-exposure and integration of the perinatal literature on sex differences. *Human Reproduction*, Vol.31, p463-472.

Thankamony A. et al. (2016). Prenatal triclosan exposure and anthropometric measures including anogenital distance as a marker of androgen exposure in humans. *Andrology*, vol.4: p 616-625.

La distance anogénitale mesurée de l'anus à la base du tubercule génital est un indicateur androgénique très souvent utilisé dans les études animales et particulièrement sensible à l'imprégnation androgénique qui survient lors de la phase embryonnaire. De nombreuses études menées chez les rongeurs ont montré une réduction de la distance anogénitale lors d'exposition aux phtalates, à la dioxine, au bisphénol A (9-11).

En pratique, plusieurs mesures de la distance anogénitale sont utilisées chez l'homme, prenant en compte la distance de l'anus à soit la jonction périnéo-scrotale, soit la base postérieure ou la base antérieure du pénis ; ces diverses options de mesures ainsi que l'absence de standardisation entraînent des résultats assez discordants. Le principal écueil demeure la mesure elle-même de la distance anogénitale chez le nouveau-né, les auteurs rapportant sept travaux de mesures de la distance anogénitale chez des nouveau-nés indemnes de pathologie et/ou de malformation uro-génitale, les mesures moyennes allant de 19,8 mm à 27,1 mm, avec des écarts types larges. A ce jour, la méthodologie et la standardisation de la mesure de la distance anogénitale reste donc mal définie ce qui constitue une limite à son utilisation.

En conclusion, le travail d'analyse et de synthèse produit dans cet article sur la distance anogénitale et les nombreuses publications ayant utilisé cet indicateur, apporte un éclairage

novateur sur cet indicateur qui pourrait effectivement refléter l'imprégnation androgénique ayant lieu au cours de la vie embryonnaire.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt