
AGREGATS SPATIO-TEMPORELS DE CAS D'AGENESIE TRANS-VERSE DU MEMBRE SUPERIEUR EN FRANCE

COMMENT PROGRESSER DANS LA RECHERCHE DES CAUSES ?

9 avril 2019

Composition du groupe de travail

Elisabeth GNANSIA (EG), Médecin généticienne, présidente du Conseil Scientifique de Remera

Emmanuelle AMAR (EA), Epidémiologiste, Directrice Générale de Remera

Eric Harlé (EH), Ingénieur, prévention des risques au travail et risques industriels

Daniel VILLESSOT (DV), Docteur ès Sciences Physiques, Expert international dans le domaine Eau et Assainissement.

Neil VARGESSON (NV)¹, Professeur de Biologie du développement

Pierre AUROUSSEAU (PA), Biologiste marin, Spécialiste des phytoplanctons

Hervé GILLET (HG), Agronome, Expert en protection des végétaux et pesticides

Merci à Michel VILLAZ pour sa relecture attentive

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|---|
| Objectif..... | 2 |
| Contexte..... | 2 |
| Hypothèses sur les voies d'exposition possibles à un/des tératogène(s) de l'environnement | 2 |
| Hypothèses sur l'origine de l'agent responsable | 4 |
| Hypothèses sur la nature de la substance (Quels tératogènes ?) | 5 |
| Quelles investigations ? | 5 |
| 1. Recherche des points communs dans le génome des enfants concernés | 6 |
| 2. Audit des systèmes d'eau..... | 6 |
| 3. Collecte d'informations supplémentaires :..... | 7 |
| Conclusion | 7 |

¹ Prof Vargesson research has been funded by Wellcome Trust, Newlife, Royal Society, MRC, University of Aberdeen and Sarcoma UK. Prof Vargesson has advised the World Health Organisation, the Canadian Parliament, the Australian Parliament and multiple media organisations on thalidomide actions; advised lawyers representing alleged thalidomide survivors of the science behind thalidomide; advised the UK and German Parliaments and the UK and European medicine regulators and multiple media organisations regarding Primodos and alleged actions on the embryo.

OBJECTIF

Ce document a pour but de suggérer des pistes afin d'orienter des enquêtes et études à la recherche de(s) cause(s) des clusters. Il est le résultat de réflexions menées au sein du groupe de travail ci-dessus, composé d'experts qui ont contacté Remera pour proposer des hypothèses et mécanismes de survenue de ces malformations.

CONTEXTE

Il n'y a plus de doute sur le fait qu'entre 2009 et 2014, des concentrations anormales de cas (que les épidémiologistes appellent « clusters » ou « agrégats ») de malformations très rares d'enfants par ailleurs en bonne santé sont survenues dans 3 régions de France. Des cas groupés dans les Bouches du Rhône nés en 2016 pourraient constituer un 4^{ème} foyer, qui reste à confirmer. Pour mémoire, les 3 zones analysées sont :

- la ville de Guidel (Morbihan, 11000 habitants) : 4 naissances entre 2011 et 2013 et à proximité, un nouveau cas identifié à Calan, enfant née en 2011
- le village de Mouzeil (Loire-Atlantique, 1800 habitants) : 3 naissances entre 2007 et 2008
- la zone de 18 km de rayon centrée sur la commune de Druillat (partie du département de l'Ain comportant environ 5000 habitants) : 8 naissances entre 2009 et 2014. *Il faut noter que SPF a annoncé par voie de presse l'existence de « 11 nouveaux cas supplémentaires suspects dans l'Ain ». Ce nombre est issu d'une interrogation de la base de données du PMSI, pour laquelle un code générique d'anomalies des membres a servi à l'extraction. Remera a retrouvé chacun de ces « cas » et est en mesure d'affirmer qu'aucun de ces 11 cas suspects n'est un cas supplémentaire, qui n'aurait pas été repéré par Remera. Parmi ces 11 cas se trouvent 5 enfants qui font partie du cluster signalé. Les autres sont indemnes d'agénésie transverse du membre supérieur.*

Des entretiens avec les mères des enfants concernés ont exclu les causes connues de malformations réductionnelles des membres, et n'ont permis de dégager aucun facteur de risque évident. En conséquence l'hypothèse d'une cause environnementale commune aux territoires concernés est posée.

Un retard substantiel a été pris dans l'exploration de ces clusters, puisque la première alerte a été donnée en 2010, et qu'il a fallu attendre novembre 2018 pour que les ministres de la santé et de l'environnement saisissent les agences sanitaires. Un « point d'étape » a été rendu public le 12 février 2019 par Santé publique France, ne faisant que reprendre la feuille de route annoncée lors de la saisine. Le comité scientifique ad hoc mis en place par l'Anses et Santé Publique France s'est réuni pour la première fois le 28 mars 2019.

Aucun facteur commun n'a été isolé en dehors du fait que ces familles résident toutes en zone rurale. Ce qui suit constitue **un ensemble de suggestions d'investigations qui pourraient être menées**, même plusieurs années après la naissance des derniers cas observés dans les zones concernées.

HYPOTHESES SUR LES VOIES D'EXPOSITION POSSIBLES A UN/DES TERATOGENE(S) DE L'ENVIRONNEMENT

La période d'exposition maternelle à prendre en compte englobe le mois précédant la conception jusqu'à la fin du 1^{er} trimestre de grossesse : les membres supérieurs se développent entre le 24^{ème}

et le 56^{ème} jours post-conceptionnels, et au-delà, seule leur taille augmente parallèlement à la croissance du fœtus.

Les différentes voies de pénétration d'un tératogène de l'environnement dans l'organisme des femmes enceintes qui peuvent être envisagées, et combinées, sont les suivantes :

- La voie directe (irradiations) peut être envisagée, mais a été écartée lors des entretiens menés avec les mères : aucune d'entre elles n'a été exposée. Par ailleurs, on n'a jamais observé d'augmentation du risque d'anomalies réductionnelles des membres après exposition aux radiations ionisantes
- La voie oculaire (projection) et cutanée, via des blessures, griffures ou des injections a également été écartée par les entretiens
- La voie respiratoire : des polluants peuvent être inhalés via des brouillards de pulvérisation, ou encore par volatilisation à la suite d'applications L'hypothèse d'épandage de produits phytosanitaires est détaillée en annexe (HG).
- La voie digestive via les aliments ou l'eau

La question d'une contamination alimentaire via l'eau potable dans les 3 régions concernées a été envisagée d'emblée : même des femmes qui ne boiraient que de l'eau en bouteille peuvent avoir été contaminées via la préparation (lavage et cuisson) des aliments, le café, le thé, etc., voire via l'inhalation lors de douches.

Pour l'eau potable, un point commun entre toutes les zones concernées - Guidel et Mouzeil, comme la région de Druillat (Ain) – est la vulnérabilité d'une partie de l'eau en amont du traitement de potabilisation. Les nappes (forages) ou prises d'eau sont à proximité de zones humides, riches en marais et étangs, quand ce n'est pas une usine chimique (Druillat). Cette situation défavorable est accentuée par la situation - pour Mouzeil et Guidel- « en bout de réseau » ou « entre deux réseaux » qui met l'utilisateur à la merci d'une défaillance sur chacun des maillons de la chaîne : captage, pompage, traitement(s), transport, stockage(s), distribution.

L'eau potable est actuellement le produit alimentaire le plus surveillé dans les pays développés, et la France, qui dispose d'une des industries les plus avancées au monde, a un savoir-faire de pointe. Ceci confère une grande sécurité au consommateur.

Un des points principaux de la surveillance est l'ensemble des analyses, portant sur des dizaines de paramètres-clefs. Toutefois, on ne peut pas surveiller tous les paramètres en continu, et des dérives peuvent s'installer entre deux analyses sur des paramètres surveillés moins fréquemment. C'est le cas par exemple de certains pesticides dont la variabilité saisonnière peut être importante.

L'expérience montre que, en France, les autorités ou collectivités territoriales réagissent vite quand une non-conformité est détectée à tout niveau de la chaîne. Par ailleurs, les analyses, les travaux, les méthodes employées, la compétence des entreprises utilisées, les matériaux mis en œuvre, font l'objet de traçabilité qui permet de vérifier si une substance a pu passer en franchise à l'insu des maîtres d'ouvrage.

Une pollution de l'eau potable localisée et non chronique dans chacune des 3 régions concernées par les clusters constitue donc une hypothèse à tester. Le test devra passer par la recherche de l'origine de l'eau distribuée aux habitants des familles concernées par les clusters, et par la revue des traitements de non-conformités. **Une fiche sur le sujet est en préparation.** (EH et DV).

HYPOTHESES SUR L'ORIGINE DE L'AGENT RESPONSABLE

L'agent auquel les grossesses auraient été exposées pourrait avoir pour origine :

- **Un ou plusieurs pesticides récemment mis sur le marché.** La période 2008-2014 a été marquée par la commercialisation de nouvelles substances actives, notamment en grandes cultures. Certaines d'entre-elles sont classées comme tératogènes.
- **Un mésusage** (produit phytosanitaire, désinfectant, etc.) : l'utilisation d'une substance non destinée à être ingérée, ni destinée au contact alimentaire, ainsi que le non-respect d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) ou, en l'absence d'obligation d'AMM, de non-respect des consignes d'utilisation, ont été suggérés. Ce mésusage peut avoir été opéré dans les situations suivantes :

- Nettoyage ou réparation du réseau d'alimentation en eau (peinture, désinfectant etc.)

- Pour pallier l'inefficacité d'un produit phytosanitaire (augmentation des dosages au-delà des seuils de toxicité)

- Pour lutter contre des nuisibles (détournement d'une AMM). Le cas de l'Ibis sacré a été suggéré². Importé d'Afrique pour les parcs zoologiques, l'Ibis sacré a progressivement colonisé les zones humides proches des littoraux pour former des populations sauvages. A présent bien implanté en Bretagne, cet oiseau continue à augmenter ses effectifs et à inquiéter les gestionnaires d'espaces naturels. Ses zones d'expansion pourraient coïncider avec les zones de clusters. Au-delà du Morbihan et de la Loire-Atlantique, la côte méditerranéenne (et donc possiblement la région de l'étang de Berre) a subi le même phénomène de colonisation, à partir d'un autre parc zoologique. Enfin, le parc de Villars les Dombes (Ain) élève ces oiseaux. Les acteurs de l'environnement s'interrogent encore sur les décisions à prendre. Il y a eu des tentatives de destruction des œufs dans les nids, mais cette opération a été un échec. Aucune gestion radicale n'a été mise en place à ce jour, mais on peut imaginer que certains professionnels ont utilisé des produits toxiques sans en informer les autorités.

- **Une contamination des eaux par des rejets toxiques industriels** (enfouissements, ruissellement, lessivages). Un cluster de malformations des membres survenu à Corby (Royaume-Uni)³ dans les années 80 a été attribué à des produits de lessivages contenant des métaux lourds. Dans le cas de Guidel, une papeterie à Quimperlé a été, pendant des années, à l'origine de pollutions de la Laïta, rivière qui constitue la limite ouest de la commune de Guidel. Pour les autres lieux, diverses hypothèses ont été soulevées, dont la possibilité d'inondations à proximité de carrières de Cinabre⁴. Il convient de vérifier s'il y a des papeteries ou autres installations industrielles à proximité des autres clusters en Loire-Atlantique et dans l'Ain.⁵

² G. de Cayeux, communication personnelle

³ http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk_news/england/northamptonshire/8624828.stm

⁴ JC Monfort, communication personnelle

⁵ <http://www.auvergne-rhone-alpes.developpement-durable.gouv.fr/les-installations-en-region-r3405.html>

- **Un cocktail de produits phytosanitaires (licites ou non) et/ou un produit de dégradation d'un produit phytosanitaire épandu** : les effets cocktails commencent à être étudiés⁶. L'hypothèse de la transformation en tératogène d'un produit phytosanitaire a priori inoffensif pour la reproduction, a été abordée par NV⁷. Au cours de sa dégradation, ce produit perdrait sa toxicité aiguë mais deviendrait tératogène, via ses métabolites. Un insecticide a été décrit, susceptible de se métaboliser en acide rétinoïque, tératogène avéré, à la lumière du soleil. Ce qui reste difficile à expliquer, c'est que seuls les membres supérieurs sont touchés et de façon unilatérale, alors que la plupart des tératogènes induisent des malformations sur de multiples organes. **Une fiche sur le sujet est en préparation.**
- **Un produit phytosanitaire issu de la contrebande et/ou de contrefaçon** : les produits distribués sous couvert d'une importation parallèle représentent 14% du marché (en 2018, environ 360 tonnes de phytosanitaires ont saisiés)⁸. Des saisies ont été réalisées en particulier dans les régions concernées par les clusters. Un jugement rendu fin 2018 par le TGI de Marseille révèle la commercialisation en 2007 de produits de contrefaçon dont la composition en substances actives ne correspondait pas à l'étiquetage. Par exemple, dans des lots de produits distribués en Loire-Atlantique et dans les Bouches-du Rhône, la substance active fongicide annoncée sur l'étiquetage avait été remplacée par un insecticide au profil toxicologique différent. L'obtention de la liste et de la composition des produits saisis pourrait permettre d'estimer leur risque tératogène.
- **Un produit testé sur une surface agricole** : des expériences ou des essais de produits phytopharmaceutiques peuvent être effectués à des fins de recherche ou de développement⁹. Dans des situations d'urgence phytosanitaire, des AMM d'une durée maximale de 120 jours peuvent être accordées. On connaît mal le devenir dans l'environnement des substances testées. La Direction Générale de L'Alimentation pourrait fournir la localisation des essais et la composition des substances. On pourra alors rechercher si de telles substances ont été testées dans les 3 régions et dans les périodes d'intérêt.
- **Un phénomène infectieux** : on peut penser à un virus (zoonose ?), ou à des toxines phytoplanctoniques venant soit d'eaux littorales, soit d'eaux douces. **Une fiche sur le sujet est en préparation.**

HYPOTHESES SUR LA NATURE DE LA SUBSTANCE (QUELS TERATOGENES ?)

Dans l'état actuel des connaissances, aucune substance connue n'a la capacité d'induire spécifiquement les malformations observées, *a fortiori* sans autres malformations associées. On ne peut cependant pas écarter l'action d'une substance non reconnue jusqu'ici comme tératogène, ou dont la dégradation dans des conditions particulières liées à l'environnement peut conduire à un effet tératogène.

QUELLES INVESTIGATIONS ?

⁶ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30064054>

⁷ <https://pubs.usgs.gov/fs/fs-043-01/> et <https://www.mprnews.org/story/2012/07/17/environment/ney-pond-deformed-frogs>

⁸ <https://www.europol.europa.eu/newsroom/news/largest-ever-seizure-of-illegal-or-counterfeit-pesticides-in-europol-silver-axe-operation>

⁹ https://www.anses.fr/fr/system/files/Note_essais_experimentations_produits_reglementes.pdf

1. RECHERCHE DES POINTS COMMUNS DANS LE GENOME DES ENFANTS CONCERNES

On doit proposer aux familles (enfants et leurs parents) un examen de l'exome (partie du génome constituée par les exons, c'est-à-dire les parties des gènes qui sont exprimées pour synthétiser les protéines), et même un séquençage total du génome. On recherchera des polymorphismes ou des mutations rares que les patients pourraient avoir en commun, et qui pourraient avoir interagi avec une substance de l'environnement.

Il est indispensable que **TOUTES ces familles bénéficient d'un conseil génétique**, qui s'attachera à leur expliquer ce qu'on sait des causes ou facteurs de risque des ATMS. Il convient également d'estimer le risque de récurrence de ce type de malformation pour la fratrie à venir ou la descendance des enfants concernés.

Un généticien suisse spécialiste du développement des membres s'est exprimé ainsi à la télévision suisse romande : « *Ne pas faire de séquençage du génome chez ces enfants et leurs parents constitue un délit de non-assistance à personne en danger* ».

Contribution of Neil Vargesson, University of Aberdeen, who has specific interests in limb development, vascular development and the impact teratogens, drugs and chemicals have on limb development

Unilateral limb reductions are very rare and how they come about is poorly understood. Could be a genetic cause where a gene involved in limb development is mutated – this could be a random event or could be a familial/hereditary event (so passed on to the next generation) – this can be tested by genetic screening. Alternatively, gene function could be blocked or reduced during limb development by a chemical or an external influence resulting in limb specific malformations. Ongoing research into how limb malformations come about will shed light on their causes as well as influences – for example, if environmental pollutants can disrupt gene expression involved in limb development or mutate genes required for limb development.

Un autre facteur de risque génétique peut être signalé chez deux de ces mères : l'une (qui réside dans les Bouches du Rhône), présente une maladie dite « Facteur V de Leiden » et l'autre réside dans l'Ain et présente un antécédent de cette maladie (à préciser). Le facteur V est un facteur de coagulation sur lequel agit normalement un anticoagulant, la protéine C activée. La protéine C activée empêche la formation des caillots. Une modification génétique dans le gène du facteur V, appelée facteur V de Leiden, empêche le fonctionnement normal de la protéine C activée. Il en résulte une augmentation des risques de thrombose veineuse, risque d'autant plus grand que la patiente est enceinte. Il est nécessaire de mettre ces patientes sous anticoagulant, aussi pendant leur grossesse, et on peut envisager dans ces deux cas la survenue de saignement chez le fœtus, avec arrêt de l'irrigation d'un membre, et en conséquence une possibilité d'amputation congénitale.

2. AUDIT DES SYSTEMES D'EAU

Un premier examen portant sur les informations ouvertes, permet de reconstituer des dates de travaux sur les traitements, réseaux ou stockages, d'ouverture ou de fermeture de forages, qui sont motivés par des non-conformités, le terme étant à préciser, ou une sécurisation accrue de l'eau consommée.

La situation favorable de la réglementation (traçabilité détaillée) en France permet de faire à coût raisonnable, une enquête sur l'eau potable dans les zones et les périodes concernées. Une telle enquête, menée sur place par des spécialistes, pourra vérifier si :

- les anomalies de qualité amont de l'eau ont été repérées et corrigées, et dans quel délai, par exemple, les écarts relevés par l'administration en matière de contamination fécale et/ou cyanobactéries entre 2006 et 2014.

- les travaux effectués ont été effectués avec efficacité, par des entreprises compétentes,

- le cas échéant, si le système eau potable a pu laisser passer des molécules indésirables.

Cela a du sens en raison de la particulière vulnérabilité des systèmes d'eau potable concernés. Ou, dit autrement, de la faible robustesse de ces systèmes à ces endroits pour des raisons géographiques.

Mais, on l'aura compris, si l'on trouve des failles dans les systèmes concernés, cela ne donnera pas le nom de la ou des molécules éventuellement impliquées dans cette hypothèse de contamination par l'eau potable.

Toutefois, à partir de la liste des polluants identifiés lors des contrôles et des produits ou méthodes de traitement utilisés, on fera une recherche bibliographique à la recherche d'études expérimentales susceptibles d'orienter vers un tératogène nouveau.

3. COLLECTE D'INFORMATIONS SUPPLEMENTAIRES :

- les saisies de produits de contrebande à partir de l'année 2008

- les produits testés dans le cadre des demandes de permis mentionnés à l'article 54 du règlement (CE) n° 1107/2009 et des AMM 120 jours délivrées, dans les zones et périodes concernées.

- les sites industriels voisins des résidences maternelles et la survenue dans ces zones d'événements tels que dommages, accidents, etc.

CONCLUSION

Les idées ne manquent pas pour explorer ce cluster. Notre groupe de travail en a exposé certaines, dont la mise en œuvre nécessite à la fois l'intervention d'autorités compétentes, et des moyens financiers. Parvenir ainsi à des hypothèses sérieuses, et à terme à la mise en évidence de causes est possible. Les hypothèses proposées nous conduisent à énoncer la nécessité d'une enquête. Or dans une enquête, la première mesure à prendre est d'aller sur place. Cela n'a jamais été fait et nous pensons que les pistes suggérées doivent être explorées. Des résultats pourraient déboucher sur des mesures préventives et l'évitement de nouveaux cas.