

# 19

## Glyphosate et formulations à base de glyphosate

### Préambule

Le glyphosate a été synthétisé en 1950 en tant que composé pharmaceutique potentiel (IARC, 2017). Les propriétés herbicides du glyphosate ont été découvertes par la société Monsanto en 1970 et la première formulation commerciale contenant du glyphosate a été mise sur le marché en 1974 sous l'appellation Roundup (Farmer, 2010). Ce produit a bénéficié d'une autorisation de mise sur le marché en 1975 en France sous le n° AMM 7400057 (Anses, 2019a). La protection par brevet a expiré en dehors des États-Unis en 1991, et aux États-Unis en 2000 (Székács et Darvas, 2012). Depuis, le glyphosate et les formulations à base de glyphosate (*glyphosate-based herbicides* ; GBH) sont commercialisés par de nombreuses autres sociétés.

Le glyphosate est un herbicide total, foliaire et systémique, ce qui signifie *i*) qu'il est efficace sur pratiquement toutes les adventices (également désignées par « mauvaises herbes ») annuelles ou vivaces et qu'il n'est pas sélectif des cultures, *ii*) qu'il est absorbé par les feuilles et *iii*) qu'après absorption il est véhiculé par la sève à travers toute la plante (les feuilles, la tige, jusqu'à l'extrémité des racines et des rhizomes) (ACTA, 2019).

Le glyphosate entre dans la composition de plusieurs centaines de préparations commerciales à usage herbicide. Les produits formulés se présentent le plus souvent sous forme de concentré soluble qui est généralement dilué entre 1 et 3 % en milieu aqueux avant épandage. Une formulation « représentative » utilisée par les agences chargées de l'évaluation des risques sanitaires, le *Roundup Ultra*, présente la composition partielle suivante : sel isopropylammonium de glyphosate 485 g/l (équivalent à 360 g/l de glyphosate comme principe actif<sup>75</sup>) et le polyoxyéthylène amine (POEA ; à 16 %) comme surfactant.

75. Les concentrations du glyphosate sont indiquées dans ce texte en mg/l d'équivalent acide pour faciliter l'interprétation des résultats, avec une correspondance de 5,9 µM équivalent à 1 mg/l.

L'analyse du potentiel cancérigène du glyphosate a généré en 2015 une différence d'interprétation entre le Centre international de recherche sur le cancer (Circ) et l'Autorité européenne de sécurité des aliments (*European Food Safety Authority* ; Efsa). Le Circ a classé le glyphosate en catégorie 2A comme « cancérigène probable » (IARC, 2017), alors que l'évaluation par des agences européennes, coordonnée par l'Institut fédéral allemand d'évaluation des risques (*Bundesinstitut für Risikobewertung* ; BfR) a conclu à une absence de classement (BfR, 2015a), conclusion reprise par l'Efsa et l'Agence européenne des produits chimiques (*European Chemicals Agency* ; Echa). Des agences extérieures à l'Union européenne ont partagé l'avis de l'Efsa : le *Joint Meeting on Pesticide Residues* (JMPR) de l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture des Nations Unies et de l'Organisation mondiale de la santé, l'autorité australienne pour les pesticides et la médecine vétérinaire, l'agence néo-zélandaise de protection de l'environnement, l'agence canadienne de réglementation de la lutte antiparasitaire et l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA). En France, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a conclu en 2016 que :

- le niveau de preuve de cancérigénicité chez l'animal et chez l'être humain était considéré comme relativement limité et ne permettait pas de proposer un classement 1A ou 1B (cancérigène avéré ou présumé pour l'être humain) dans le cadre de l'application des critères du règlement (CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et mélanges (*Classification, Labelling and Packaging of substances and mixtures* ; CLP) ;
- au vu du niveau de preuve limité, la classification en catégorie 2 (substances suspectées d'être cancérigènes pour l'être humain) peut se discuter, sans que l'Agence ne puisse se prononcer en l'absence d'une analyse détaillée de l'ensemble des études.

L'Anses a donc, en juillet 2019, établi un cahier des charges pour la réalisation d'études complémentaires sur le potentiel génotoxique du glyphosate sur la base du test des comètes *in vivo*.

Cet écart dans l'évaluation du potentiel cancérigène du glyphosate entre les agences d'évaluation des risques sanitaires et le Circ repose, notamment, sur les aspects suivants :

- une disparité entre les bases de données avec un corpus de données réglementaires non connues du Circ et réciproquement des articles scientifiques non intégrés dans la base de données du BfR ;
- une différence sur les critères d'interprétation des résultats des études toxicologiques (*in vivo* et *in vitro*) et prise en compte de modèles (huître, moule,

poisson, reptile, ver de terre) par le Circ généralement non pris en compte par les agences ;

- une différence sur l'objectif (force de l'évidence et mécanismes d'action pour le Circ *versus* évaluation du risque pour le BfR). Par exemple, l'induction d'un stress oxydatif et la positivité de tests de cancérogenèse chez les rongeurs ont été pris en compte par le Circ pour aboutir au classement 2A.

L'objectif de cette expertise collective n'a pas pour vocation d'analyser les différents facteurs impliqués dans cette controverse qui a généré de nombreuses publications tant dans les revues scientifiques (Portier et coll., 2016 ; Mesnage et Antoniou, 2017 ; Tarazona et coll., 2017 ; Benbrook, 2018 ; Clausing et coll., 2018 ; Douwes et coll., 2018 ; Tarone, 2018) que les médias.

Ce chapitre a pour objectif de présenter et analyser les données d'expologie disponibles sur le glyphosate (utilisation, contamination des milieux et de la population), les données d'épidémiologie publiées depuis 2013 et les mécanismes d'action toxiques du glyphosate et des GBH sur la base de la littérature récente.

## Utilisation, contamination des milieux, et biosurveillance

Le glyphosate est probablement l'herbicide le plus utilisé dans le monde (Benbrook, 2016). Il a été enregistré dans plus de 130 pays en 2010 avec une production mondiale annuelle de matière active estimée à environ 600 000 tonnes de substances actives en 2008, 650 000 en 2011 et 720 000 en 2012 (IARC, 2017). Avec l'arrivée dans les années 1990 de plantes génétiquement modifiées (OGM) résistantes à cet herbicide (les plantes « *Roundup Ready* » non cultivées en France), principalement maïs, soja et coton, une forte augmentation mondiale de l'utilisation du glyphosate a été constatée (Beckert et coll., 2011). Ainsi, sa consommation mondiale passe de 56 000 tonnes en 1994 à plus de 820 000 tonnes en 2014 (tableau 19.I), avec un usage principalement agricole (76 % du volume en 1994 et 90 % en 2014).

**Tableau 19.I : Utilisation mondiale du glyphosate dans les milieux agricoles et non agricoles entre 1994 et 2014**

	1994	1995	2000	2005	2010	2012	2014
Glyphosate (kg x 1 000)	56 296	67 078	193 485	402 350	652 486	718 600	825 804
Agricole	42 868	51 078	155 367	339 790	578 124	648 638	746 580
Non agricole	13 428	16 000	38 118	62 560	74 362	69 962	79 224
Part agricole (%)	76	76	80	84	89	90	90
Part non agricole (%)	24	24	20	16	11	10	10

Quantités de substance active, données de Benbrook, 2016.

## Utilisation en France

Comme l'ensemble des produits phytopharmaceutiques de synthèse, le glyphosate est interdit dans les espaces publics en France depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2017 et, depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2019, sa vente est interdite aux particuliers. En octobre 2020, l'Anses annonce que l'utilisation du glyphosate sera interdite en agriculture pour les situations où ce traitement peut être substitué par une solution non chimique (labour, désherbage manuel ou mécanique, etc.). Par ailleurs, les doses homologuées seront réduites pour certains usages (viticulture, arboriculture fruitière, grandes cultures et forêt). Ces décisions ont pour objectif de limiter la quantité de glyphosate utilisée en agriculture en 2021, l'interdiction de ce pesticide ayant été annoncée par le Gouvernement à l'horizon 2023.

En France, en mars 2018, 75 préparations commerciales contenant du glyphosate disposaient d'une AMM en tant que produits phytopharmaceutiques (Anses, 2019b). En décembre 2019, en France, l'Anses a notifié le retrait des autorisations de 36 produits à base de glyphosate et le refus d'autoriser 4 nouveaux produits. Ces produits représentaient en 2018 près des trois quarts des tonnages de produits à base de glyphosate vendus en France, pour des usages agricoles et non agricoles<sup>76</sup>.

En France, comme dans la plupart des pays européens, le glyphosate n'est pas utilisé sur les cultures en place mais pour préparer le terrain avant leur implantation. Il est donc préférentiellement utilisé entre deux cultures agricoles soit pour la destruction des repousses de la culture précédente soit pour désherber la parcelle restée nue et envahie par les « mauvaises herbes ». Le glyphosate est aussi utilisé, dans une moindre mesure, en agriculture pour le désherbage des bords de parcelle, des chemins ou des bâtiments. L'Inra a mené des recherches dans l'objectif de proposer des alternatives à l'usage du glyphosate (Reboud et coll., 2017). Une dépendance au glyphosate a été mise en lumière selon les systèmes agricoles. Par exemple, les systèmes suivants ont montré une forte dépendance au glyphosate : grandes cultures peu diversifiées et sur de grandes surfaces, fruits et légumes de plein champ, betteraves. De même, des systèmes très dépendants voire inféodés au glyphosate ont été mis en évidence : l'agriculture de conservation, c'est-à-dire sans travail du sol (sans labour, et donc sans destruction mécanique des mauvaises herbes), représentant 3 à 4 % des surfaces agricoles, la production de noisettes (environ 200 producteurs et 10 tonnes de glyphosate utilisées pour cet

---

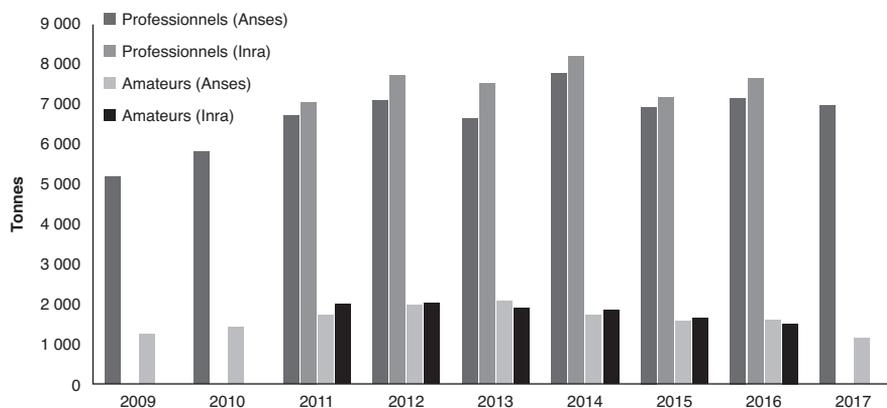
76. Publié le 9/12/2109 sur le site de l'Anses :

<https://www.anses.fr/fr/content/1%E2%80%99anses-annonce-le-retrait-de-36-produits-%C3%A0-base-de-glyphosate> [consulté le 6 janvier 2020].

usage en 2017), le rouissage du lin (les tiges de lin sont laissées à décomposer au champ par les microorganismes présents afin de ne récolter ensuite que la fibre, ce qui interdit tout travail du sol ; la France est le premier producteur mondial de lin textile), les vignes en terrain difficile (pente ou cailloux, rendant peu praticable le désherbage mécanique : Banyuls, Maury, Côte-Rôtie, Condrieu, soit environ 3 000 ha), la canne à sucre.

Comme le souligne l'Inra (Reboud et coll., 2017), le glyphosate est un herbicide plébiscité par la profession agricole grâce à son large spectre d'efficacité, son faible coût et sa facilité d'utilisation. Son utilisation a eu plusieurs conséquences : en permettant de meilleurs débits de chantiers, il a permis d'étendre les surfaces cultivées par exploitation, l'arrêt des labours a fait évoluer le parc d'agroéquipements, certaines cultures ont pu être implantées sur des terrains peu propices...

Entre 2009 et 2017, le glyphosate est l'herbicide le plus utilisé en France et, selon les années, la première (ou la deuxième) substance active phytopharmaceutique (Anses, 2019b). La figure 19.1 montre l'évolution des ventes de glyphosate entre 2009 et 2017. Au cours de cette période, les quantités annuelles vendues passent de 6 421 tonnes (en 2009) à 10 070 tonnes (en 2014) (Reboud et coll., 2017 ; Anses, 2019b). Une partie de ces quantités est vendue sous forme de produits commerciaux autorisés pour le grand public (les non-professionnels) : entre 13,9 % (2017) et 23,7 % (2013).



**Figure 19.1 : Quantités de glyphosate vendues (en tonnes de substance active) pour des usages professionnels ou amateurs (non-professionnels et grand public) entre 2009 et 2017 (d'après Anses, 2019b et Reboud et coll., 2017)**

Si les quantités de glyphosate vendues annuellement au niveau national entre 2009 et 2017 n'évoluent que modestement, les ventes au niveau départemental varient fortement et de manière très hétérogène. Ainsi, selon l'Inra (Reboud et coll., 2017), entre 2012 et 2016 les ventes nationales augmentent de 1,4 % (8 980 à 9 110 tonnes) alors que dans 10 départements la quantité de glyphosate vendue par hectare de surface agricole utile augmente de plus de 75 %. Les auteurs de l'étude expliquent ces variations par la destruction de prairies permanentes au Nord et l'implantation de nouveaux vergers et vignes au Sud.

Le ministère de l'agriculture mène régulièrement des enquêtes sur les pratiques culturales des agriculteurs<sup>77</sup>. Il s'agit d'enquêtes par échantillonnage de parcelles agricoles sur certaines cultures d'intérêt, réalisées à différents intervalles de temps. L'exploitation des données issues de ces enquêtes a été réalisée par l'Anses (Anses, 2019b). Il en ressort que, sur les grandes cultures en 2014, la part des superficies traitées au moins une fois par du glyphosate a été de 55,1 % pour la canne à sucre, 29 % pour le tournesol, 21,8 % pour le pois protéagineux, 18,9 % pour le colza, 16,8 % pour l'orge, 13,3 % pour le blé tendre, 12,9 % pour le maïs grain, 11,9 % pour le triticale, 10,7 % pour le blé dur, 10,6 % pour le maïs fourrage, 10,3 % pour la betterave sucrière et 5,9 % pour la pomme de terre. Pour la viticulture en 2013-2014, la part des surfaces traitées au moins une fois est estimée à 72,3 %. Pour l'arboriculture en 2012, cette part est de 60,6 % pour la prune, 49,4 % pour la pomme et 44,9 % pour la cerise. Enfin, concernant le maraîchage en 2013, cette part est de 10,1 % pour les carottes et de 9,2 % pour les melons, les autres cultures maraîchères étudiées étant moins concernées (moins de 3,6 % des surfaces traitées). Notons, à la lumière de ces résultats, que les cultures pérennes sont de fortes utilisatrices de glyphosate. Concernant les grandes cultures, le glyphosate est généralement utilisé en interculture, c'est-à-dire entre deux successions de cultures. L'Inra (Reboud et coll., 2017) souligne que l'utilisation de glyphosate est sensiblement plus fréquente sur les parcelles recevant des successions de colza et céréales à paille, ou de tournesol et céréales à paille et que, compte tenu des variations d'assolement, l'utilisation du glyphosate varie d'une région à l'autre. Les systèmes de cultures mis en place dans l'agriculture française ont pour conséquence un besoin important de désherbage des parcelles. Celui-ci est réalisé préférentiellement de manière chimique (limitant le besoin en machine et en main d'œuvre) et à base de glyphosate car il s'agit d'un herbicide efficace et d'un coût relativement modéré.

---

77. Agreste – La statistique, l'évaluation et la prospective agricole.  
<http://agreste.agriculture.gouv.fr/enquetes/pratiques-culturales/> [consulté le 6 janvier 2020].

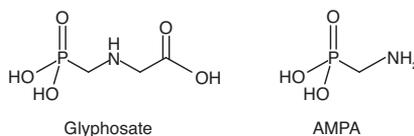
## Contamination des milieux et des denrées

Le glyphosate est une molécule très polaire, insoluble dans les solvants organiques et amphotère (à la fois une base et un acide) (figure 19.2). Appartenant à la famille des aminophosphonates, il est présent sous forme de sels glyphosate-isopropylammonium, glyphosate-potassium, glyphosate-monoammonium, glyphosate-diméthylammonium selon les nombreuses formulations commerciales.

Comme la plupart des pesticides, des résidus de glyphosate sont présents dans les différents compartiments environnementaux (l'air, le sol, l'eau, les denrées alimentaires) qui peuvent être des sources d'exposition pour la population générale.

Le glyphosate est rapidement et fortement adsorbé dans les sols (notamment ceux qui sont à pH acide, riche en minéraux ou faible en phosphate) où il est métabolisé et rendu inactif par les organismes microbiens (Mamy, 2004). La dégradation du glyphosate conduit à la formation de plusieurs métabolites. La voie de dégradation principale (99 %) implique l'activité de l'enzyme glyphosate oxydoréductase qui décompose le glyphosate en aminométhyl-phosphonique (l'AMPA, figure 19.2) et en acide glyoxylique qui sont finalement minéralisés en  $\text{CO}_2$  et en phosphate inorganique. L'AMPA est également produit par des plantes résistantes au glyphosate exprimant cette même enzyme et peut aussi provenir de la dégradation des phosphonates présents notamment dans les détergents. Une moindre proportion de glyphosate est dégradée par d'autres bactéries en N-méthyl-glycine (sarcosine), en glycine et finalement en  $\text{CO}_2$ .

Une étude récente des terres arables en Europe a montré que le glyphosate et l'AMPA sont présents dans presque la moitié de plus de 300 échantillons testés à des concentrations supérieures à 0,05 mg/kg (Silva et coll., 2018). En France, les concentrations médianes du glyphosate et de l'AMPA dans les sols provenant de dix régions agricoles étaient respectivement 0,08 et 0,13 mg/kg. L'AMPA est plus persistant dans les sols que son composé parent, avec une demi-vie qui varie considérablement selon le degré d'adsorption et de dégradation (de quelques jours à quelques années) (Efsa, 2015a ; ATSDR, 2019).



**Figure 19.2 : Formules chimiques du glyphosate et de son métabolite, l'acide aminométhylphosphonique (AMPA)**

Le glyphosate est représenté sous sa forme acide ; le groupement phosphate peut être anionique et former des sels avec des cations (potassium, monoammonium...).

### ***Techniques de dosage***

Les caractéristiques physicochimiques du glyphosate rendent délicates les procédures analytiques quantitatives et exigent des méthodologies rigoureuses et validées d'autant que d'autres métabolites secondaires peuvent se former (suite à des N-acétylations). Des procédures robustes d'extraction et de purification poussée sont nécessaires pour éviter, entre autres, des effets de matrice (influence de l'environnement du produit analysé).

Différentes méthodes de dosages ont été rapportées pour la quantification du glyphosate dans l'eau, les céréales et autres aliments, les sols... Ces méthodes utilisent en grande majorité une détection par spectrométrie de masse (MS) avec comme première étape, un traitement des échantillons, adapté à chacune des matrices considérées (eau, aliments...). Pour répondre à la question de l'exposition, la technique de dosage doit être assez sensible pour suivre des variations de concentration de glyphosate en fonction de la dose ou du temps. Les caractéristiques des dosages correspondent à la justesse (absence de biais), la fidélité (répétabilité, reproductibilité intra- et inter-laboratoires) et la quantification (limite de détection, limite de quantification et linéarité du modèle) (Anses, 2015). Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont des valeurs systématiquement rapportées dans les dossiers de validation. Des réglementations, lignes directrices ou normes proposent des méthodes d'estimation de la LOD. Ces méthodes ont pour objectif de déterminer la limite en dessous de laquelle l'analyte est considéré comme « non détecté ». Généralement, la LOQ représente la plus faible concentration dans un échantillon qui puisse être quantifiée avec une fidélité et une justesse acceptables dans des conditions expérimentales indiquées.

Le dosage du glyphosate dans les urines est communément réalisé pour mesurer les expositions de diverses populations ; il repose sur des méthodes soit de chimie analytique soit d'immunologie, alors que celles-ci ont été en première intention développées pour le suivi de la contamination des eaux, sols et denrées alimentaires. L'Efsa a proposé que la somme des concentrations de glyphosate, AMPA, N-acétyl AMPA et N-acétyl glyphosate soit utilisée pour une évaluation du risque, ce qui oriente préférentiellement vers des méthodes de dosage en chimie analytique car une détection reposant sur des anticorps peut être plus délicate du fait de la diversité des métabolites formés (Efsa, 2019a). Pour le dosage du glyphosate en chimie analytique, les techniques de détection incluent l'électrophorèse capillaire (Lanaro et coll., 2015), la chromatographie liquide et détection en fluorescence (Wang et coll., 2016) et la chromatographie liquide et spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) actuellement la méthode la plus utilisée (Bernal et coll., 2012 ; Liao et coll., 2018). Comme le glyphosate est hautement

hydrophile, non volatile, de faible masse molaire et sans groupe chromophore<sup>78</sup>, il est difficile à analyser par HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance) avec une détection UV ou en fluorescence ou bien en GC (chromatographie en phase gazeuse)-MS sans une étape préalable de dérivation (Yoshioka et coll., 2011). Il s'agit alors de greffer un agent chromophore facilitant une séparation soit par chromatographie gazeuse soit par chromatographie liquide tout en sachant que chacune de ces procédures présente des contraintes spécifiques à prendre en considération. L'étape de dérivation est généralement conduite avec le 9-fluorenylméthyl chloroformate afin d'obtenir un temps de rétention acceptable dans les colonnes de chromatographie (Botero-Coy et coll., 2013). Les analystes ont récemment développé des méthodes en spectrométrie de masse (MS ou MS/MS) avec électrospray et proposé plusieurs méthodes de dosage en LC-MS/MS adaptées à différentes matrices (Martins-Junior et coll., 2009). De nombreux articles rendent compte de dosages en détection par MS sur des échantillons d'eau et d'aliments et seulement quelques articles rapportent celui-ci dans des fluides biologiques comme les urines. Les échantillons urinaires sont généralement traités par une solution aqueuse acide (0,1 % acide formique). Les dosages urinaires du glyphosate et de l'AMPA ont été réalisés en LC-MS/MS avec l'ajout de standards internes marqués (0,05 mg/ml D<sub>2</sub><sup>13</sup>C<sup>15</sup>N-AMPA et <sup>13</sup>C<sup>3</sup><sup>15</sup>N-glyphosate). Selon cette méthode la linéarité de dosage est obtenue de 0,05 à 1 000 µg/l avec une valeur de LOQ de 0,1 µg/l (Jensen et coll., 2016). La LOD pour le glyphosate est établie à 0,05 µg/l basée sur un rapport signal : bruit supérieur à 3 : 1. Il faut noter que la linéarité du dosage peut être obtenue sur un intervalle plus important de concentration, entre 0,1 et 10 µg/l (Conrad et coll., 2017).

La technique de dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* ; ELISA) est une méthode utilisée en routine pour le dosage de pesticides dans diverses matrices avec une faible réactivité croisée pour d'autres substances (Byer et coll., 2011). Un test ELISA largement utilisé pour doser le glyphosate, commercialisé par la société Eurofins-Abraxis, repose sur une compétition entre le glyphosate présent dans l'échantillon et un complexe glyphosate-enzyme vis-à-vis de la liaison avec un anticorps polyclonal anti-glyphosate révélé par un dérivé coloré. L'échelle de quantification d'un échantillon dans l'eau est de 0,075 à 4 µg/l. Les réactions croisées vis-à-vis de l'AMPA ou du glufosinate sont faibles de l'ordre de < 0,1 %.

---

78. Un chromophore est un groupe d'atomes comportant une ou plusieurs doubles liaisons, formant une séquence de doubles liaisons conjuguées avec le reste de la molécule, ce qui lui confère généralement une couleur facilement analysable.

La technique LC-MS/MS permet de quantifier le glyphosate et l'AMPA et sa sensibilité est supérieure à celle du test ELISA (LOD = 0,025 µg/l *versus* 0,1 µg/l) (Byer et coll., 2008). Cependant, il existe une forte corrélation entre les résultats produits par ces deux techniques ( $R^2 = 0,88$ ), bien que la méthode ELISA tende à surestimer la concentration de glyphosate. Cette surestimation peut reposer sur une interférence avec des ions, des sels et/ou des phosphates (Clegg et coll., 1999). La technique ELISA a été comparée à la technique de dosage en GC/MS et un coefficient de corrélation de 0,87 a été estimé pour les urines (Krüger et coll., 2014). Le dosage dans l'eau de glyphosate par technique HPLC a été comparé à une technique ELISA de première génération (Rubio et coll., 2003). Pour le test immunologique, la LOD était de 1 µg/l voire 0,1 µg/l si une étape préalable de dérivation était réalisée. L'interférence avec le glufosinate ou l'AMPA était très faible avec une réactivité croisée < 0,01 %. Pour la méthode HPLC, la LOD était de 50 µg/l. Plus récemment, le test ELISA d'Eurofins-Abraxis a été utilisé pour le suivi de la contamination des eaux fluviales, de boissons et des urines d'agriculteurs exposés au glyphosate (Rendon-von Osten et Dzul-Caamal, 2017). Pour un dosage du glyphosate dans l'eau, la valeur de la LOQ était de 0,13 µg/l et la concentration maximale détectable de 4 µg/l.

En résumé, la sensibilité pour le glyphosate est similaire entre les deux méthodes de dosage avec un effet faible de réaction croisée dû à la matrice. En revanche, la gamme de linéarité du dosage est supérieure pour les techniques analytiques (MS) et elles permettent aussi de doser l'AMPA ce qui n'est pas le cas pour le test ELISA.

### **Surveillance dans l'air ambiant**

Le glyphosate, en raison de sa pression de vapeur négligeable<sup>79</sup> de l'ordre de  $9,8 \times 10^{-8}$  à  $1,94 \times 10^{-7}$  mmHg n'est pas susceptible de se volatiliser à partir des surfaces traitées et sa présence dans l'atmosphère est liée à la dérive des gouttelettes de pulvérisation. L'Anses a recensé l'ensemble des mesures effectuées par les Associations agréées de surveillance de la qualité de l'air (AASQA) disponibles entre 2012 et 2015 (Anses, 2019b). Aucune AASQA n'a analysé le glyphosate dans l'air ambiant. Cependant, selon une étude réalisée en région PACA, sur 83 analyses effectuées entre 2015 et 2016, le glyphosate a été détecté 5 fois, soit un taux de détection de 7 %. Sur les 4 sites de mesures, 3 ont détecté du glyphosate dans l'air au moins une fois. Les prélèvements ont été effectués pendant 24 h avec un débit de 30 m<sup>3</sup>/h et les concentrations en glyphosate variaient entre 0,18 et 1,04 ng/m<sup>3</sup> (Ravier

et coll., 2019). La surveillance des pesticides dans l'air n'est pas réglementée et ces concentrations sont actuellement difficilement interprétables.

### **Surveillance dans le milieu aquatique**

La réglementation sur la qualité de l'eau est issue de la directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000. Elle établit un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau<sup>80</sup>. Ainsi, en France, un programme de surveillance de la qualité de l'eau a été mis en place pour les différentes catégories d'eau (eaux douces de surface, eaux souterraines, eaux côtières et de transition). Pour les cours d'eau et les canaux, le réseau de contrôle de surveillance est constitué de 1 500 sites pérennes « cours d'eau » répartis sur le territoire (métropole), auxquels se rajoutent les sites pour les canaux, les sites internationaux, ainsi que les sites pour les départements ultramarins<sup>81</sup>. Les eaux souterraines sont surveillées par 2 356 stations (en 2015)<sup>82</sup>. Le choix des sites est réalisé de manière à fournir une image cohérente et globale de l'état chimique des eaux souterraines et à fournir des données de contrôle représentatives<sup>83</sup>. Il en est de même pour les eaux de surface. Les mesures de contamination par les pesticides ne sont pas identiques pour toutes les stations. Si certains pesticides doivent systématiquement être étudiés (atrazine, diuron...), d'autres en revanche, comme le glyphosate et son métabolite l'AMPA, ne peuvent être recherchés que sur une partie des stations (mais sur au moins 25 % d'entre elles). Les recherches des différents pesticides sont surtout liées au contexte local et au risque potentiel de contamination du milieu. Les toutes premières données disponibles concernant le glyphosate<sup>84</sup> datent de juillet 2000. Sur l'ensemble de l'année 2000, 117 stations ont analysé le glyphosate. Elles étaient 2 038 en 2010 et 3 272 en 2018.

Le glyphosate sous sa forme acide (N-(phosphonométhyl)glycine) est relativement peu soluble dans l'eau (10,5 g/l à 20 °C, pH = 1,9). Il est utilisé généralement sous forme de sel afin d'augmenter considérablement sa solubilité (< 1 kg/l pour le sel d'isopropylamine), avec comme conséquence la possibilité d'une contamination des milieux aquatiques. Le milieu aquatique

80. Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.

81. Circulaire du 13 juillet 2006 relative à la constitution et la mise en œuvre du programme de surveillance pour les eaux douces de surface en application de la directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000 du Parlement et du Conseil établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.

82. Système d'information sur l'eau, SIE. Disponible sur [www.eaufrance.fr](http://www.eaufrance.fr)

83. Directive n° 2006/118/CE du 12/12/06 sur la protection des eaux souterraines contre la pollution et la détérioration.

84. Système d'information sur l'eau, SIE. Disponibles sur [www.naiades.eaufrance.fr](http://www.naiades.eaufrance.fr)

est le compartiment de l'environnement le plus surveillé pour ce qui est de la contamination par les pesticides. Il bénéficie de normes réglementaires et de plans de surveillance nombreux et réguliers<sup>85</sup>. L'arrêté du 11/01/2007 (relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique), fixe : i) pour les pesticides dans les eaux brutes de toute origine, utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine, une norme de 0,5 µg/l pour chaque pesticide pris individuellement et de 2 µg/l pour la somme de tous les pesticides individualisés détectés et quantifiés (ainsi que leurs métabolites) ; ii) pour les pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine une norme de 0,1 µg/l pour chaque pesticide pris individuellement et de 0,5 µg/l pour la somme de tous les pesticides individualisés détectés et quantifiés (ainsi que leurs métabolites). Ces valeurs sont valables pour le glyphosate. Seuls 4 pesticides font l'objet de normes plus sévères à 0,03 µg/l : l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore et l'époxyde d'heptachlore. Ces normes, en vigueur dans l'Union européenne<sup>86</sup>, ont été fixées sur la base des limites analytiques de détection à l'époque où elles ont été établies et ne correspondent, en aucun cas, à des valeurs sanitaires de référence. De ce fait, elles ne peuvent être comparées – d'un point de vue de risque sanitaire – à des concentrations constatées dans d'autres milieux ou matrices biologiques (par exemple les urines). Les valeurs limites du glyphosate dans l'eau potable au Canada<sup>87</sup> et aux États-Unis<sup>88</sup> sont plus élevées, soit respectivement de 280 et 700 µg/l.

Concernant les eaux de surface, l'Anses (Anses, 2019b) a comparé les données issues des plans de surveillance à la norme de qualité environnementale<sup>89</sup> qui est fixée à 28 µg/l pour le glyphosate et à 452 µg/l pour son

---

85. Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.

86. Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.

87. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/guidelines-canadian-drinking-water-quality-guideline-technical-document-glyphosate.html> [consulté le 6 janvier 2020].

88. <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations> [consulté le 6 janvier 2020].

89. Les normes de qualité environnementales (NQE) sont utilisées pour déterminer des valeurs limites de concentrations moyennes annuelles pour protéger les organismes d'une possible exposition prolongée aux polluants dans les milieux aquatiques. La NQE pour les eaux douces non destinées à la production d'eau potable est déterminée en appliquant un facteur de sécurité sur la plus faible dose avec un effet toxique aigu. L'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) indique pour le glyphosate une NQE de 28 µg/l, calculée à partir de la NOEC (*No Observed Effect Concentration*) chez une diatomée (<https://substances.ineris.fr/fr/substance/cas/1071-83-6/3> [consulté le 10 janvier 2020]). Pour l'AMPA, la NQE est 452 µg/l, calculée à partir de l'EC<sub>50</sub> chez une algue verte.

métabolite l'AMPA. En métropole, entre 2007 et 2017, le glyphosate a été recherché dans 36,7 % (2007) à 94,7 % (2017) des points de mesure pour lesquels au moins un pesticide a été recherché. Le glyphosate a été quantifié dans 22,2 % (2007) à 49,7 % (2017) de ces points. Un seul point, en 2014, présente une moyenne annuelle des concentrations de glyphosate (70,2 µg/l) supérieure à la norme de qualité pour les eaux de surface. Notons que le taux de quantification<sup>90</sup> augmente régulièrement entre 2007 et 2017 mais que parallèlement les limites de quantification s'améliorent au cours de cette période. Il n'est donc pas possible de relier directement l'augmentation du taux de quantification à une augmentation de la contamination du milieu par le glyphosate sans connaître les valeurs individuelles des dosages. Concernant l'AMPA, le taux de recherche parmi les points de mesure est similaire. Il est quantifié dans 43,1 % (2007) à 74,4 % (2017) de ces points et aucun dépassement des normes n'est noté. Dans les départements et régions d'Outre-mer (DROM), le glyphosate est recherché dans 44,6 % (2007) à 100 % (2011) des points de mesure. Il est quantifié dans 2,1 % (2008) à 16 % (2007) des cas et aucun point ne présente de moyenne annuelle supérieure à la norme. Concernant l'AMPA, le taux de recherche varie de 41,9 % (2007) à 100 % (2011), le taux de quantification de 9,2 % à 28 % (2013) et aucune non-conformité n'est constatée.

Concernant les eaux souterraines, les données présentées par l'Anses (Anses, 2019b) sont comparées à la norme de 0,1 µg/l, soit celle de l'eau destinée à la consommation humaine. En métropole entre 2007 et 2017, le glyphosate est quantifié dans 0,5 % (2009) à 3,4 % (2017) des analyses effectuées et la moyenne annuelle des concentrations est supérieure à la limite de 0,1 µg/l pour 0,4 % (2012) à 1,5 % (2007) des points de mesure. Concernant l'AMPA, la quantification concerne 0,8 % (2009) à 4,7 % (2012) des analyses effectuées et le dépassement de la norme est constaté pour 0,5 % (2013/2014/2016) à 1,4 % (2012) des points de mesure. Dans les DROM, le glyphosate est quantifié dans 0 % (2010 à 2014) à 4,2 % (2007) des analyses et la norme est dépassée pour 0 % (2010 à 2014) à 7,4 % (2007) des points de mesures.

Concernant les eaux destinées à la consommation humaine, le taux de non-conformité (> 0,1 µg/l) varie de 0,05 % (2017) à 0,26 % (2007) pour le glyphosate et de 0,04 % (2017) à 0,29 % (2011) pour l'AMPA. Aucune mesure ne dépasse la valeur de référence dérivée des valeurs toxicologiques (soit un seuil sanitaire) qui est fixée à 900 µg/l pour la somme des concentrations en glyphosate et AMPA (Afssa, 2007).

90. Le nombre d'analyses sur lesquelles le pesticide concerné a été quantifié rapporté à l'ensemble des analyses de ce paramètre.

En résumé, le glyphosate et l'AMPA sont présents dans l'ensemble des compartiments aquatiques, de manière plus importante dans les eaux de surface et dans une moindre mesure dans les eaux souterraines et l'eau destinée à la consommation humaine. Ainsi, dans les eaux de surface, le Commissariat général au développement durable (2015) notait qu'entre 2009 et 2013 les concentrations totales les plus importantes retrouvées étaient pour les herbicides, le glyphosate et l'AMPA, puis l'atrazine, le métolachlore, le S-métolachlore, le chlortoluron, l'isoproturon, le bentazone et leurs produits de dégradation ; pour les fongicides, le boscalide ; et pour les insecticides, l'imidaclopride. Aucun dépassement du seuil d'écotoxicité n'est observé pour le glyphosate et l'AMPA. Alors que dans les eaux souterraines, les substances les plus répandues, certaines interdites depuis au moins une décennie, sous leur forme d'origine ou partiellement dégradée étaient : l'atrazine (atrazine éthyl présente dans plus de 51 % des points de mesures en 2017), le diméthachlore, le métolachlore, le métazachlore, la simazine, le bentazone, l'oxadixyl, l'alachlore, le chlortoluron et le glyphosate (ministère de la Transition écologique et solidaire, 2019).

### ***Surveillance dans les denrées alimentaires***

Le glyphosate et son métabolite l'AMPA sont des contaminants retrouvés dans les produits alimentaires, des produits agricoles bruts ou des produits transformés. Des limites maximales de résidus (LMR) pour ces composés sont fixées par réglementation, qui diffèrent selon les denrées. Pour les denrées alimentaires humaines, les LMR sont de 0,05 mg/kg pour le lait, les œufs et la viande, 0,1 mg/kg pour la plupart des plantes à usage alimentaire et 10 à 20 mg/kg pour les graines, tandis que pour les fourrages d'animaux, elles sont de l'ordre de 500 mg/kg. Ces valeurs sont issues des bonnes pratiques agricoles et n'ont pas été fixées comme une limite au-delà de laquelle on observerait un effet toxique chez l'être humain. Elles sont a priori conservatrices et bien inférieures à celles correspondant à une exposition inductrice de toxicité.

Le glyphosate a été trouvé, à l'état de traces, comme un contaminant d'un maïs génétiquement modifié pour être tolérant au glyphosate (variété NK603 cultivée au Canada) qui était traité ou non avec l'herbicide (16 µg/kg pour le maïs traité) (Chereau et coll., 2018). En revanche, pour le soja transgénique, la contamination par le glyphosate et l'AMPA est retrouvée avec une valeur de l'ordre de 10 mg/kg alors qu'il n'est pas détectable dans le soja issu d'agriculture biologique (Bohn et coll., 2014).

Le rapport de 2017 de l'Union européenne sur les résidus de pesticides dans les aliments présente les résultats issus de l'ensemble des États membres ainsi que de l'Islande et la Norvège soit 88 247 échantillons (Efsa, 2019b). Le

glyphosate a été analysé en 2017 par 25 pays sur 8 672 échantillons ; 71 d'entre eux étaient des échantillons d'aliments pour bébés et 306 des échantillons d'aliments d'origine animale (y compris le miel). Dans 97,5 % des échantillons, le glyphosate n'était pas quantifié. Dans 2,2 % des échantillons (191 échantillons), le glyphosate a été quantifié à des niveaux supérieurs à la limite de quantification, mais inférieurs à la LMR et dans seulement 21 échantillons (0,2 %), les concentrations de résidus ont dépassé la LMR. Les résidus de glyphosate n'ont été détectés dans aucun des échantillons d'aliments pour bébés. Des dépassements de LMR ont été identifiés dans des échantillons provenant d'Allemagne (7 échantillons de miel), d'Italie (1 échantillon d'asperges et 1 échantillon de seigle), de Pologne (1 échantillon de sarrasin et 1 échantillon de poires), d'Autriche (1 échantillon de miel), de France (1 échantillon de riz) et 8 échantillons d'origine inconnue (5 de seigle et 3 de sarrasin).

### Toxicocinétique humaine

Peu d'études permettent de décrire avec précision les données toxicocinétiques du glyphosate chez l'être humain. L'absorption cutanée est considérée comme la principale voie d'exposition aux pesticides chez les professionnels (Lavy et coll., 1992 ; Connolly et coll., 2019a). Les études chez le singe ont montré que l'absorption cutanée, tant pour le Roundup concentré que pour une dose diluée correspondant à un usage agricole, est de 2,2 % pour la plus forte concentration testée ( $270 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Pour les études *in vitro* menées sur des échantillons de peau humaine, un taux inférieur à 2 % est constaté après 16 h de contact (Wester et coll., 1991). L'exposition par inhalation est considérée comme une voie d'exposition mineure (Jauhainen et coll., 1991 ; Johnson et coll., 2005 ; IARC, 2017).

Dans le profil toxicologique du glyphosate, l'Agence pour le registre des substances toxiques et maladies (ATSDR) des États-Unis ne recense aucune donnée humaine ou animale concernant la distribution du glyphosate après contamination par inhalation (ATSDR, 2019). Des données humaines limitées ont été trouvées concernant la distribution du glyphosate après absorption par voie orale. La détection de glyphosate dans des échantillons de sérum et/ou d'urine d'individus qui avaient ingéré – intentionnellement ou non – des produits contenant du glyphosate confirme l'absorption par le tractus gastro-intestinal (Hori et coll., 2003 ; Sribanditmongkol et coll., 2012 ; Zouaoui et coll., 2013). Le taux d'absorption du glyphosate dans le cas d'ingestion par voie orale, estimé à partir des données sur les rats, est de l'ordre de 20 à 30 % (ATSDR, 2019). Récemment, des études ont été

réalisées chez des hommes volontaires ayant consommé un repas dont le contenu en glyphosate était connu (Zoller et coll., 2020) ou ingéré du glyphosate dissous dans de l'eau à une concentration connue (Faniband et coll., 2021). Ces deux études montrent que les quantités excrétées de glyphosate dans les urines représentent entre 1 et 6 % de la dose ingérée. Concernant le métabolite AMPA, il ne représente qu'entre 0,01 et 0,3 % de la dose ingérée en glyphosate sur une base molaire. Ces observations conduisent à penser raisonnablement que le taux d'absorption du glyphosate dans le tractus gastro-intestinal chez l'être humain est bien inférieur à celui observé chez le rat. Après son absorption, le glyphosate est facilement distribué par le sang sans accumulation significative dans aucun tissu particulier.

Le glyphosate ne subit pas de métabolisation significative chez l'être humain ou les rongeurs et seule une fraction réduite (< 1 %) est métabolisée en AMPA (ATSDR, 2019). Les travaux récents de Zoller et coll. (2020) et Faniband et coll. (2021) confirment cette très faible métabolisation du glyphosate chez l'être humain. Des résultats d'études animales identifient les matières fécales et l'urine comme les principales voies d'élimination du glyphosate ; les quantités urinaires excrétées reflétant la quantité de glyphosate absorbée et les quantités fécales reflétant la quantité de glyphosate non absorbée après l'exposition par voie orale (ATSDR, 2019). Le Circ a estimé la demi-vie sérique de glyphosate chez le rat exposé par voie orale à 33 h (IARC, 2017), alors que la demi-vie retenue par Roberts et coll. est de 3 à 4 h pour l'élimination du glyphosate du sang de patients qui avaient intentionnellement ingéré des quantités importantes de produits contenant du glyphosate (Roberts et coll., 2010). Dans d'autres cas d'empoisonnement, les concentrations plasmatiques de glyphosate ont chuté rapidement (en 2 à 3 jours) après le début de l'observation (Talbot et coll., 1991). Connolly et coll. ont récemment rapporté une demi-vie moyenne du glyphosate comprise entre 5 h 30 et 10 h, selon que les concentrations sont ou non corrigées par la créatinine ou tiennent compte du taux d'excrétion urinaire (Connolly et coll., 2019b).

## **Biosurveillance**

L'estimation des niveaux d'imprégnation au glyphosate de la population générale et des professionnels agricoles entre dans le champ de la biosurveillance. Une étude de biosurveillance implique la quantification d'un agent chimique ou d'un biomarqueur dans un compartiment biologique (sang, urine, sueur, cheveu, lait, cordon ombilical...) avec pour objectif d'évaluer l'exposition à cet agent. Le développement de méthodes de biosurveillance

implique une stratégie de prélèvement et de conservation de l'échantillon, de prise en compte de la toxicocinétique du produit avec ses variations interspécies et de sélection de la matrice (sang, urine...) (Barr et coll., 2006).

Le glyphosate absorbé par voie orale est essentiellement excrété inchangé dans les urines, ce qui valide la quantification de ce pesticide dans les urines pour l'évaluation d'une exposition récente en comparaison d'autres matrices (sang, salive...) (Curwin et coll., 2006). Les urines sont donc considérées comme la meilleure matrice pour des études de biosurveillance (Acquavella et coll., 2004 ; Curwin et coll., 2006 ; Krüger et coll., 2014 ; Niemann et coll., 2015). Les recommandations sont d'ajuster la concentration urinaire des agents chimiques à la créatinine dans le cas d'une étude d'exposition environnementale (Barr et coll., 2005). Idéalement, les urines de 24 h devraient être collectées dans une étude de biosurveillance, mais la demi-vie d'élimination du glyphosate<sup>91</sup> permet d'estimer l'exposition récente au glyphosate à l'aide d'un recueil d'échantillons par spot au cours d'une journée (Connolly et coll., 2018 ; Connolly et coll., 2019b).

En France, peu d'études fournissent des données de biosurveillance sur l'exposition au glyphosate. Les pesticides les plus souvent mesurés sont ceux de la famille des organochlorés, des organophosphorés, des pyréthrinoides ou des triazines (Chevrier et coll., 2011 ; Fréry et coll., 2013 ; Dereumeaux et coll., 2016).

La cohorte PELAGIE a été mise en place en Bretagne entre 2002 et 2006 pour étudier l'impact de contaminants de l'environnement sur le développement intra-utérin et de l'enfant (Chevrier et coll., 2009). Une étude exploratoire de mesures urinaires prénatales d'herbicides (par chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse triple quadripole ; LOQ = 50 ng/l) a été réalisée chez 47 femmes de la cohorte en début de grossesse ayant déclaré avoir utilisé des herbicides sur les pelouses ou sur les allées de leur habitation. Le glyphosate a été quantifié chez 43 % des femmes à un taux médian de 0,20 µg/l, et l'AMPA chez 36 % des femmes à un taux médian de 0,31 µg/l (Vandentorren et Guldner, 2013 ; Anses, 2019b). Les auteurs soulignent qu'aucun facteur lié aux modes d'usage de désherbant (fréquence, forme du produit...) n'apparaît déterminant du taux de détection ou du niveau urinaire de cette exposition.

Santé publique France met en œuvre un Programme national de biosurveillance décliné en deux volets complémentaires, dont un volet périnatal (Dereumeaux et coll., 2016). Ce dernier concerne 4 145 femmes enceintes

---

91. Le temps nécessaire pour que la concentration sanguine de glyphosate dans l'organisme diminue de moitié lors de sa phase d'élimination.

ayant accouché en France en 2011 et participant à la cohorte ELFE (Vandentorren et coll., 2009 ; Pirus et coll., 2010) avec la mesure urinaire de 130 biomarqueurs d'exposition (dont des pesticides) dans des échantillons d'urine. Le glyphosate a été mesuré par LC-MS/MS (LOD = 15 ng/l ; LOQ = 50 ng/l) dans les urines de 1 036 femmes collectées au moment de l'admission à la maternité. Les quantifications de celui-ci et de son métabolite sont rares : 0,3 % des échantillons avaient un taux de glyphosate au-dessus de la LOQ et 0,1 % pour l'AMPA.

Au niveau européen, depuis les débats concernant le glyphosate, la mesure de cette substance est intégrée dans les dosages urinaires de xénobiotiques dans les programmes de biosurveillance, et en particulier dans le programme européen de biosurveillance HBM4EU<sup>92</sup>.

Au niveau international, une revue de la littérature récente a recensé les études documentant les niveaux d'exposition chez les travailleurs (8 études) et en population générale (14 études) (Gillezeau et coll., 2019). Parmi la population professionnelle, les sujets étaient soit des forestiers (Jauhainen et coll., 1991), soit des horticulteurs (Connolly et coll., 2017 ; Connolly et coll., 2018), soit des agriculteurs et leur famille (Acquavella et coll., 2004 ; Curwin et coll., 2006 ; Mesnage et coll., 2012 ; Jayasumana et coll., 2015b ; Rendon-von Osten et Dzul-Caamal, 2017). Une étude complémentaire a été ajoutée ultérieurement (Perry et coll., 2019) portant le total à 9 études. Les mesures ont toutes été réalisées à partir d'échantillons d'urines sur un total de 423 sujets dont 73 conjointes et 148 enfants. Les études ont été réalisées aux États-Unis (n = 3), en Irlande (n = 2) en Finlande (n = 1), en France (n = 1), au Mexique (n = 1) et au Sri Lanka (n = 1). Les dosages urinaires du glyphosate varient de 0,26 µg/l à 73,5 µg/l. Ils sont difficilement comparables car les tâches et les moments des prélèvements sont assez hétérogènes. Ces résultats n'apportent qu'une information limitée sur les variations des niveaux d'imprégnation au cours du temps. Concernant l'étude française recensée (Mesnage et coll., 2012), les résultats concernent 5 personnes : un agriculteur, sa conjointe et leurs 3 enfants. Les concentrations de glyphosate mesurées chez le travailleur atteignent 9,5 µg/l après l'épandage de glyphosate et 2 µg/l deux jours après. Cette revue de la littérature recense également 14 études réalisées en population générale, totalisant un effectif de 3 298 sujets. Les matrices biologiques sont l'urine (n = 11), le lait maternel et l'urine (n = 1), le sang ombilical et maternel (n = 2). Les femmes enceintes font l'objet de quatre études. Les dosages urinaires varient de 0,16 µg/l à 7,6 µg/l.

Une autre revue de la littérature datant de 2015 (Niemann et coll., 2015) rapporte les résultats de 7 études en Europe et aux États-Unis documentant le niveau d'exposition au glyphosate dans les urines. Dans ces études réalisées aux États-Unis, la concentration urinaire moyenne est de 2 à 3 µg/l avec d'importantes variations dont un maximum à 233 µg/l, alors qu'elle est de 1 µg/l en moyenne avec un maximum de 5 µg/l dans les études réalisées en Europe. Les auteurs ont comparé les niveaux de contamination à certaines valeurs de référence et concluent que les estimations de l'exposition sont de niveau inférieur à la dose journalière admissible (DJA ; la quantité qui peut théoriquement être ingérée quotidiennement sans risque pour la santé) et au niveau d'exposition acceptable pour l'opérateur (*Acceptable Operator Exposure Level*) et que les travailleurs ou les consommateurs n'étaient pas exposés à des niveaux susceptibles d'entraîner des risques sanitaires.

Une concentration de l'ordre du µg/l d'urine pourrait-elle néanmoins être associée à un potentiel effet toxique ? Pour répondre à cette question, il est nécessaire de calculer la concentration de glyphosate dans les urines pour une personne exposée à la dose maximale sans effet toxique. Chez l'être humain, la DJA suite à une exposition par voie orale est actuellement fixée à 0,5 mg/kg pc/j (Efsa, 2015a ; maintenue en 2018). Cette valeur est calculée sur la base de la dose sans effet nocif (*Non Observed Adverse Effect Level* ; NOAEL) établie à 50 mg/kg pc/j à partir d'études chez le rat et le lapin. En effet, la DJA est obtenue en divisant la NOAEL par un facteur de sécurité égal à 100, correspondant aux incertitudes inter (10) et intra espèce (10) (qui sont donc multipliées,  $10 \times 10 = 100$ ). Ainsi, pour une personne d'un poids corporel de 60 kg, présentant un taux d'absorption de 20 % du glyphosate (Niemann et coll., 2015) et une élimination rapide urinaire avec un volume d'urine de 1,5 à 2,0 l/j, le calcul aboutit à :  $0,5 \times 60 \times 0,2 / 1,5 \text{ à } 2 = 3,0 \text{ à } 4,0 \text{ mg/l}$  de glyphosate dans les urines de 24 h (ou 3 000 à 4 000 µg/l). Cette valeur est bien supérieure (3 000 à 4 000 fois) à celle retrouvée dans les urines qui est de l'ordre de 1 µg/l d'urine pour la population générale en Europe. Même si la valeur de la DJA est sous-estimée d'un facteur 10, le facteur de sécurité serait égal à 300-400 ce qui est en faveur, en l'état actuel des connaissances et des méthodes expérimentales utilisées, d'une absence de risque. Par ailleurs, d'après des analyses de dosages urinaires chez des travailleurs exposés, l'exposition correspondait en moyenne à 0,4 % de la DJA avec un maximum de 2 %, soit en moyenne 2 µg/kg/j (Niemann et coll., 2015). Les travaux récents montrant que l'absorption intestinale du glyphosate serait inférieure (1 à 6 %, Zoller et coll., 2020 ; Faniband et coll., 2021) à celle estimée initialement (20 à 30 %, ATSDR, 2019) ne modifient pas la DJA, dans la mesure où celle-ci est construite en étudiant le lien entre la dose externe et la survenue d'un effet toxique.

Les études de biosurveillance décrites ci-dessus renseignent sur les niveaux d'imprégnation au glyphosate et ses métabolites. L'interprétation des données expérimentales repose sur des considérations pratiques et théoriques (variabilités interindividuelles, chronicité de l'exposition, effets des mélanges, différences intra-espèces) et on ne peut exclure, sur la base de ces études, que l'exposition au glyphosate ne présente aucun risque pour l'être humain. Cela souligne l'importance d'évaluer les risques potentiels pour la santé de l'exposition au glyphosate à travers des études épidémiologiques qui sont examinées ci-dessous.

## **Données épidémiologiques**

Les études épidémiologiques portant sur l'exposition au glyphosate concernent plusieurs pathologies cancéreuses, comme les cancers solides ou hématologiques (en particulier les lymphomes non hodgkiniens ; LNH), ainsi que des pathologies non cancéreuses comme des pathologies respiratoires, la maladie de Parkinson, des troubles endocriniens, des troubles anxio-dépressifs et des troubles du développement.

Si les agences réglementaires évaluent la toxicité pour l'être humain et l'environnement de matières actives comme le glyphosate, les organismes vivants ne sont pas exposés qu'à celles-ci mais également aux coformulants. Cette remarque est aussi valable pour la très grande majorité des pesticides qui sont présents sous forme de mélanges contenant des adjuvants de diverses natures. Bien que peu d'études épidémiologiques sur le glyphosate aient pris en compte les formulations, elles permettent néanmoins d'apporter des arguments sur les risques sanitaires potentiellement associés à l'exposition professionnelle ou environnementale au glyphosate.

### **Lymphomes non hodgkiniens**

#### ***Données provenant de l'expertise collective de 2013***

Lors de l'expertise collective sur les pesticides réalisée par l'Inserm en 2013 (Inserm, 2013), le glyphosate était associé à un excès de risque significatif de LNH avec une présomption faible ou moyenne selon les populations exposées (agriculteurs, exposition professionnelle englobant toute catégorie d'emploi : applicateurs, éleveurs). Il en était de même de l'association glyphosate et malathion (tableau 19.II).

**Tableau 19.II : Exposition au glyphosate et survenue de LNH : expertise collective de 2013**

	Aminophosphonate glycine	Populations exposées Présomption d'un lien
Glyphosate	Agriculteurs	±
	Exposition professionnelle	+
Glyphosate + malathion	Exposition professionnelle	±

+ d'après quatre études cas-témoins

± d'après les résultats d'une cohorte (agriculteurs) ou une étude cas-témoins (glyphosate + malathion)

Le point de la littérature en 2013 montrait une hétérogénéité des résultats entre les études de cohorte et de cas-témoins : il n'y avait pas d'association entre l'exposition au glyphosate et le risque de LNH dans l'étude de cohorte AHS (*Agricultural Health Study*) aux États-Unis, ce qui contrastait avec les résultats des études cas-témoins en particulier celles menées aux États-Unis, au Canada et en Suède. Dans ces études, des augmentations significatives de risque de LNH étaient observées et persistaient après ajustement sur l'exposition aux autres pesticides mais reposaient sur des effectifs faibles. Une des études cas-témoins (Eriksson et coll., 2008) avait rapporté une association statistiquement significative avec certains sous-types de lymphomes à cellules B comme le lymphome lymphocytaire/leucémie lymphoïde chronique. Une étude cas-témoins menée au Canada avait montré que l'exposition au glyphosate seul n'augmentait pas le risque de LNH alors que son utilisation en combinaison avec le malathion induisait une augmentation significative du risque (OR = 2,10 ; IC 95 % [1,31-3,37]) (Hohenadel et coll., 2011).

### Nouvelles données

- **Méta-analyses**

Une revue systématique de la littérature accompagnée d'une méta-analyse basée sur 44 articles originaux a évalué les associations entre le LNH et l'exposition à 21 familles de pesticides et 80 substances actives, dont le glyphosate (Schinasi et Leon, 2014). Le risque de LNH était associé positivement à l'exposition professionnelle au glyphosate (mRR = 1,5 ; IC 95 % [1,1-2,0]), résultat observé à partir d'études publiées antérieurement et déjà prises en compte dans la précédente expertise collective (cinq études cas-témoins et la cohorte AHS dans son analyse publiée en 2005). L'association était renforcée lorsqu'on considérait le lien entre l'exposition au glyphosate et les lymphomes à cellules B (mRR = 2,0 ; IC 95 % [1,1-3,6]) sans hétérogénéité entre les résultats des études.

Une méta-analyse des cohortes d'agriculteurs, récemment publiée par le consortium AgricoH (Leon et coll., 2019) étudiait le rôle de l'exposition (de

façon binaire : oui/non) entre 14 familles de pesticides et 33 substances actives dont le glyphosate et le risque de LNH et de ses principaux sous-types. Ce travail reposait sur les données de trois cohortes de travailleurs agricoles : AHS (États-Unis), AGRICAN (France) et CNAP (Norvège), totalisant plus de 300 000 sujets, 2 430 cas et 3,5 millions de personnes-années à risque. Parmi les associations testées, peu apparaissaient significatives mais une association positive statistiquement significative était observée entre l'exposition au glyphosate et le risque de lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB, l'un des sous-types de LNH le plus fréquent), après ajustement sur les autres pesticides (mRR = 1,4 ; IC 95 % [1,0-1,9]). Aucune hétérogénéité entre les résultats des trois cohortes n'est objectivée. Cette élévation statistiquement significative du risque reposait principalement sur les données de la cohorte norvégienne (CNAP) avec un risque de LDGCB associé à l'exposition au glyphosate RR = 1,7 ; IC 95 % [1,1-2,7] (100 cas exposés), tandis que les risques étaient légèrement élevés mais non significatifs dans les cohortes américaine (AHS) et française (AGRICAN) avec respectivement : RR = 1,2 ; IC 95 % [0,7-2,0] (93 cas exposés) et RR = 1,1 ; IC 95 % [0,5-2,2] (28 cas exposés). Le glyphosate était utilisé respectivement par 38 %, 83 % et 36 % des agriculteurs et ouvriers agricoles des cohortes CNAP, AHS et AGRICAN.

Entre 2013 et 2019, deux autres méta-analyses (Chang et Delzell, 2016 ; Zhang et coll., 2019) et une analyse « poolée » (Pahwa et coll., 2019) ont étudié la relation entre une exposition professionnelle au glyphosate et le risque de LNH en agrégeant les mêmes études que Schinasi et Leon (2014). Les méta-analyses reposaient sur les mêmes cinq études cas-témoins antérieurement publiées (entre 2001 et 2009) et les données de la cohorte AHS. L'étude de Zhang et coll. a inclus l'analyse la plus récente de la cohorte AHS publiée en 2018 (Andreotti et coll., 2018), tandis que celle de Chang et Delzell était basée sur une analyse de l'AHS publiée en 2005 (de Roos et coll., 2005). La première méta-analyse (Chang et Delzell, 2016), mettait en évidence un risque augmenté de LNH statistiquement significatif chez les agriculteurs exposés au glyphosate mRR = 1,3 ; IC 95 % [1,0-1,6] avec peu d'hétérogénéité dans les résultats des études ( $I^2 = 0\%$ ) et pas de biais de publication détecté. Cette association était robuste à plusieurs analyses secondaires selon la méthode statistique, la permutation des résultats par ceux d'une analyse plus récente, ou les deux à la fois. La seconde méta-analyse (Zhang et coll., 2019) se concentrait sur les sujets les plus exposés au glyphosate (en durée et en intensité) et rapportait un risque légèrement plus élevé : mOR = 1,4 ; IC 95 % [1,1-1,8]. Une analyse complémentaire à partir des données de l'AHS de 2005 et des groupes les plus fortement exposés montrait un risque de LNH comparable : mOR = 1,5 ; IC 95 % [1,1-1,9].

Plusieurs analyses de sensibilité utilisant différentes catégorisations de l'exposition, selon les sous-types de LNH inclus, le lieu géographique de l'étude, l'exposition à d'autres pesticides, le type d'analyse statistique, ou l'exclusion tour à tour d'une des six études, ont retrouvé des risques comparables. Au total, cette dernière étude rapporte un risque légèrement plus élevé que les deux autres méta-analyses (Schinasi et Leon, 2014 ; Chang et Delzell, 2016). Cette étude est la seule à aborder l'analyse des groupes les plus exposés au glyphosate. Une autre différence notable est l'inclusion des cas de myélome multiple dans le groupe des LNH dans la dernière version de l'analyse de l'AHS (conformément à la classification OMS et à une publication du consortium *InterLymph* qui placent ces hémopathies malignes dans le groupe des hémopathies lymphoïdes à cellules B matures car dérivant d'une prolifération monoclonale de plasmocytes). Cependant, une analyse de sensibilité montrait que les résultats n'étaient pas expliqués par la prise en compte des myélomes. En effet, une association entre le myélome multiple et le glyphosate, si elle existait, aurait pu être à l'origine de cette élévation du risque, mais cela n'était pas démontré dans la dernière analyse de la cohorte AHS et repose aujourd'hui sur un faible niveau de preuve. Aucune analyse par sous-type de LNH n'était disponible dans la méta-analyse de Zhang et coll. Les deux seuls résultats allant dans le même sens et étant spécifiques d'un sous-type de lymphome (le LDGCB et plus largement le lymphome B) était donc ceux publiés respectivement par Leon et coll. en 2019 et Schinasi et Leon en 2014, déjà évoqués ci-dessus.

Enfin, une analyse poolée (méta-analyse sur données individuelles) publiée en 2019 examinait le rôle spécifique de l'exposition au glyphosate sur le risque de LNH et ses principaux sous-types (Pahwa et coll., 2019). Elle utilisait les études cas-témoins menées aux États-Unis et au Canada (*North American Pooled Project*), études dont la majorité étaient prises en compte dans les méta-analyses décrites plus haut. Les auteurs montraient que les sujets ayant utilisé du glyphosate avaient un risque augmenté de LNH (OR = 1,4 ; IC 95 % [1,1-1,8]) mais, après ajustement sur l'exposition aux pesticides 2,4-D, dicamba et malathion, le risque était atténué et non significatif (OR = 1,1 ; IC 95 % [0,8-1,5]). Les auteurs faisaient les mêmes observations concernant l'analyse par sous-type de LNH. Cependant, une association positive statistiquement significative avec le risque de LNH était observée chez les sujets du 3<sup>e</sup> tercile c'est-à-dire ayant utilisé du glyphosate plus de deux jours par an (OR = 1,7 ; IC 95 % [1,0-2,9] ; p de tendance = 0,2) de même que chez les sujets atteints de LDGCB (OR = 2,1 [1,1-4,3] ; p de tendance = 0,2) ce qui était concordant avec les méta-analyses présentées plus haut, en particulier celle de Zhang et coll. Ces risques augmentés n'étaient toutefois pas retrouvés avec la durée de l'exposition en années. La

tendance vie entière était significative uniquement pour le lymphome lymphocytaire lorsqu'on analysait la variable d'exposition en continu, alors que le risque était augmenté mais non significatif lorsque l'exposition était étudiée de façon binaire (exposé oui/non).

- **Cohortes**

L'analyse la plus récente de la cohorte AHS a été publiée de manière isolée (Andreotti et coll., 2018) et portait spécifiquement sur l'exposition au glyphosate en utilisant les données de suivi les plus à jour (extension du suivi de l'incidence des cancers jusqu'en 2012 en Caroline du Nord et jusqu'en 2013 dans l'Iowa avec 7 290 cas de cancer incidents, et incluant des informations supplémentaires sur l'exposition à partir d'un questionnaire de suivi). Cette analyse ne mettait pas en évidence de risque augmenté avec les LNH ou ses principaux sous-types. Les données de la cohorte AHS ont été en 2019 analysées conjointement à celles de deux autres cohortes dans une analyse menée par le consortium AgricoH (voir ci-dessus).

En résumé, des nouvelles données renforcent la présomption d'un lien entre glyphosate et le risque de LNH dans des populations d'agriculteurs (présomption moyenne ; tableau 19.III). Cette conclusion repose d'une part sur la méta-analyse récemment publiée par le consortium de cohortes d'agriculteurs, AgricoH (Leon et coll., 2019) qui, à partir des données des cohortes française et norvégienne (mais pas celles de la cohorte américaine (AHS)) montre une association entre le lymphome diffus à grandes cellules B et l'exposition au glyphosate, et d'autre part, les trois méta-analyses et analyses poolées récentes réalisées à partir d'études plus anciennes montrant systématiquement un risque augmenté (Chang et Delzell, 2016 ; Pahwa et coll., 2019 ; Zhang et coll., 2019) en particulier chez les agriculteurs les plus exposés. Cependant, cette synthèse doit également prendre en compte le fait que plusieurs études dont une cohorte (AHS dans sa dernière analyse réalisée en 2018 et publiée isolément) ne montraient pas d'association et qu'aucun effet dose n'a été mis en évidence. À notre connaissance, aucune donnée supplémentaire n'a été publiée depuis l'expertise collective de 2013 pouvant conforter une augmentation de risque de LNH dans le cas d'exposition combinée au glyphosate et malathion.

**Tableau 19.III : Exposition au glyphosate et survenue de LNH : nouvelles données**

Aminophosphonate glycine	Populations exposées	Présomption d'un lien
Glyphosate	Agriculteurs, professionnels	+

d'après les résultats de trois méta-analyses (analyses nouvelles mais d'études connues), d'une méta-analyse associant les données de trois cohortes (AgricoH) en plus des quatre études cas-témoins prises en compte en 2013.

## Myélome multiple

Historiquement, le myélome multiple a été étudié séparément car c'est une entité reconnue de longue date et considérée comme distincte, c'est pourquoi un chapitre séparé pour cette maladie a été maintenu dans cette mise à jour de l'expertise collective. Pour autant, certaines études récentes se focalisant sur l'effet d'un principe actif de pesticide en particulier, ont regroupé les cas de myélome multiple avec le groupe des LNH comme dans la dernière analyse de la cohorte AHS dans son analyse centrée sur l'exposition au glyphosate (Andreotti et coll., 2018).

### *Données provenant de l'expertise collective de 2013*

Les cohortes de travailleurs exposés principalement à une classe de pesticides ou à un pesticide bien spécifique, sont peu nombreuses. Elles portent généralement sur un nombre de cas très limité ce qui rend extrêmement difficile l'étude de l'existence éventuelle d'une relation entre ce type d'exposition et les myélomes multiples. Les résultats de l'AHS disponibles en 2013 montraient toutefois une tendance à l'augmentation de risque avec certaines intensités d'exposition au glyphosate sans être toutefois statistiquement significative. C'est également le cas de trois études cas-témoins (canadienne, américaine, française) montrant une augmentation non significative de risque chez les sujets les plus fortement exposés sans ajustement sur l'exposition aux autres pesticides.

### *Nouvelles données*

Depuis l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, une méta-analyse a été publiée sur l'exposition au glyphosate (Chang et Delzell, 2016) ainsi qu'une mise à jour récente de la cohorte AHS portant spécifiquement sur cette exposition (Andreotti et coll., 2018).

La méta-analyse sur le glyphosate de Chang et Delzell en 2016 repose sur trois études cas-témoins publiées entre 1993 et 2013 et deux analyses différentes des mêmes données de la cohorte AHS publiées en 2005 (de Roos et coll., 2005) puis en 2015 (Sorahan, 2015). Un risque augmenté de myélome multiple, statistiquement significatif, était observé chez les agriculteurs exposés au glyphosate (mRR = 1,54 ; IC 95 % [1,0-2,19]) en utilisant l'analyse de 2005 de la cohorte AHS et un risque de magnitude comparable (mRR = 1,4 ; IC 95 % [1,0-1,9]), en utilisant l'analyse de Sorahan publiée en 2015. Cette méta-analyse montrait une absence d'hétérogénéité des effets entre les études ( $I^2 = 0\%$ ) et une absence de biais de publication identifiable. Cette association était robuste à plusieurs autres analyses secondaires.

Une ré-analyse de la cohorte AHS a été publiée seule plus récemment. Elle repose sur les données avec le suivi le plus long (Andreotti et coll., 2018) et s'adresse spécifiquement à l'exposition au glyphosate. Cette dernière ne met pas en évidence d'association avec le myélome multiple.

Au regard de ces résultats, la présomption d'un lien entre le risque de myélome multiple et l'exposition au glyphosate est faible ( $\pm$ ). Elle repose sur un faible niveau de preuves : risque élevé mais à la limite de la signification statistique dans une méta-analyse de trois études cas-témoins et une étude de cohorte.

### **Lymphome de Hodgkin**

Depuis la précédente édition de l'expertise collective de l'Inserm publiée en 2013, une méta-analyse spécifiquement centrée sur l'exposition au glyphosate a été publiée. De même, une mise à jour de la cohorte AHS a également été publiée sur l'exposition au glyphosate. Aucune information spécifique sur le lien entre glyphosate et le lymphome de Hodgkin n'était présente dans l'édition 2013 de l'expertise collective.

#### ***Nouvelles données***

Une méta-analyse portant spécifiquement sur le glyphosate, publiée en 2016 (Chang et Delzell, 2016), étudie conjointement deux études cas-témoins publiées entre 2009 et 2012 et ne met pas en évidence d'association entre le risque de lymphome de Hodgkin et l'exposition au glyphosate chez les agriculteurs (mRR = 1,1 ; IC 95 % [0,7-1,6]). Pour autant, les données disponibles reposent sur de faibles effectifs.

La ré-analyse la plus récente de la cohorte AHS (Andreotti et coll., 2018) s'adresse spécifiquement à l'exposition au glyphosate et ne met pas en évidence d'association avec le lymphome de Hodgkin. L'effectif des cas exposés est faible et reflète la relative rareté de la maladie (10 % des lymphomes).

La littérature scientifique publiée depuis 2013 est relativement peu abondante avec trois études dont une méta-analyse (basée sur deux études cas-témoins) et une mise à jour de la cohorte AHS, toutes deux centrées sur l'exposition au glyphosate. Ces études, qui sont basées sur un faible nombre de cas, n'ont pas observé un excès de risque de survenue de lymphome de Hodgkin. Au regard de ces résultats, aucune présomption d'un lien entre le risque de lymphome de Hodgkin et l'exposition au glyphosate n'est mise en évidence.

## Leucémies

Lors de l'expertise collective de 2013, une étude de la cohorte AHS a rapporté un risque augmenté non significatif d'association entre l'exposition au glyphosate (tercile intermédiaire uniquement) et le risque de leucémie. Les auteurs de l'étude concluaient à une absence d'association entre exposition au glyphosate et le risque de leucémies.

Depuis 2013, trois méta-analyses ont été publiées dont deux réalisées à partir des données de trois cohortes d'agriculteurs (AHS, AGRICAN, CNAP) et portant sur l'exposition à plusieurs familles de pesticides (El-Zaemey et coll., 2019 ; Leon et coll., 2019), tandis que la troisième portait spécifiquement sur l'exposition au glyphosate à partir de trois études cas-témoins (Chang et Delzell, 2016). Une mise à jour de la cohorte AHS a été publiée et portait spécifiquement sur l'exposition professionnelle au glyphosate. On distinguera les leucémies lymphoïdes (souvent étudiées avec les lymphomes et représentées par l'entité la plus fréquente, la leucémie lymphoïde chronique ; LLC) des leucémies myéloïdes (l'entité étudiée la plus fréquente est la leucémie aiguë myéloïde ; LAM).

- **Méta-analyses**

Les méta-analyses de cohortes d'agriculteurs du consortium AgricoH ne montraient pas d'association entre l'exposition au glyphosate et la LLC (à noter : aucune analyse n'a concerné le risque de leucémie myéloïde dans ces études) (El-Zaemey et coll., 2019 ; Leon et coll., 2019). Une méta-analyse publiée en 2016 portait spécifiquement sur le glyphosate (Chang et Delzell, 2016). Elle analysait conjointement les données de trois études cas-témoins publiées entre 1990 et 2009 et ne mettait pas en évidence d'association entre le risque de LLC et l'exposition au glyphosate chez les agriculteurs (mRR = 1,0 ; IC 95 % [0,6-1,5]). En revanche, une méta-analyse de deux études évaluant l'association entre l'utilisation de glyphosate et le risque de leucémie à tricholeucocytes montrait un risque augmenté, mais non significatif (mRR = 2,5 ; IC 95 % [0,9-7,3]).

- **Cohortes**

Une ré-analyse récente de la cohorte AHS a été publiée de manière isolée (Andreotti et coll., 2018) et portait spécifiquement sur l'exposition au glyphosate en utilisant les données de suivi les plus à jour (extension du suivi de l'incidence des cancers jusqu'en 2012 en Caroline du Nord et jusqu'en 2013 en Iowa avec 7 290 cas de cancer incidents, et inclusion des informations supplémentaires sur l'exposition à partir d'un questionnaire de suivi). Cette analyse ne mettait pas en évidence de risque augmenté avec la LLC.

En revanche, le risque de LAM était augmenté parmi les applicateurs classés dans le quartile d'exposition le plus élevé (exposition en nombre de jours évalué sur la vie entière, ajusté sur un score d'intensité d'utilisation) par rapport aux non-utilisateurs (RR = 2,4 ; IC 95 % [0,9-6,3], p de tendance = 0,1), bien que cette association ne soit pas statistiquement significative. Les résultats étaient comparables en appliquant une fenêtre de latence d'exposition de cinq ans (RR 4<sup>e</sup> quartile = 2,3 ; IC 95 % [1,0-5,5], p de tendance = 0,07) et de 20 ans (RR 3<sup>e</sup> tercile = 2,0 ; IC 95 % [1,0-4,0], p de tendance = 0,04).

La présomption d'un lien entre l'exposition au glyphosate et la leucémie est faible ( $\pm$ ), et repose actuellement uniquement sur les derniers résultats de la cohorte AHS qui devront être confirmés.

### **Cancers urogénitaux**

L'exposition au glyphosate avait fait l'objet d'une analyse lors d'un premier suivi de la cohorte AHS en 2001 portant sur 2 088 cas incidents de cancer de la prostate et aucune association n'avait été observée (de Roos et coll., 2005). Lors d'un suivi ultérieur de la cohorte, jusqu'en 2012 ou 2013, selon l'État de résidence des participants, portant sur 2 844 cas incidents, aucune association n'a été observée avec le risque de survenue de ce cancer (Andreotti et coll., 2018).

De même, au sein de l'AHS, les cancers de la vessie survenus entre l'inclusion dans la cohorte (entre 1993 et 1997) et 2011 ont été étudiés en lien avec l'usage d'une cinquantaine de molécules – dont le glyphosate – recueilli par questionnaire à l'inclusion (Koutros et coll., 2016). L'analyse a permis d'inclure 321 cas de cancer de la vessie chez les hommes (à noter que les femmes ont été exclues de l'analyse car un seul cas a été identifié). Lorsque le nombre de jours d'exposition cumulés au cours de la vie était pris en compte, une augmentation non significative du risque était observée avec le glyphosate (RR = 1,93 ; IC 95 % [0,95-3,91]).

### **Pathologies respiratoires**

Dans l'AHS, la plus grande étude à avoir évalué le lien entre des expositions à des matières actives spécifiques et différents paramètres de la fonction respiratoire, le glyphosate apparaît associé dans plusieurs analyses : *i*) il est associé au risque de sifflements allergiques (OR = 1,56 ; IC 95 % [1,19-2,03]) et non allergiques (OR = 1,24 ; IC 95 % [1,07-1,44]) après ajustement sur

l'indice de masse corporelle (IMC), l'asthme actif, l'âge, le statut tabagique, l'État, la fréquence d'utilisation de pesticides et la fréquence d'utilisation de tracteur diesel chez plus de 22 000 agriculteurs, avec une relation dose-réponse observée pour les sifflements allergiques (Hoppin et coll., 2017) ; *ii*) avec les sifflements chez 2 255 applicateurs industriels dans un modèle ajusté sur l'âge, le statut tabagique, l'asthme/allergie et l'IMC (OR = 1,38 ; IC 95 % [1,03-1,86]), mais une association qui était diminuée et non plus statistiquement significative après inclusion dans le modèle de l'exposition au chlorimuron-éthyle (Hoppin et coll., 2006), et *iii*) avec l'asthme allergique chez les femmes agricultrices dans un modèle ajusté sur l'âge, l'État, le statut tabagique, l'IMC et le fait de « grandir dans une ferme » (OR = 1,31 ; IC 95 % [1,02-1,67]) (Hoppin et coll., 2008).

Quant à l'étude de l'impact de l'exposition aux pesticides sur l'aggravation de l'asthme, une étude transversale portant sur 926 agriculteurs avec un asthme actif dans la cohorte AHS (Henneberger et coll., 2014) a mis en évidence un risque d'exacerbation d'asthme diminué avec l'utilisation de deux herbicides incluant le glyphosate (OR = 0,5 ; IC 95 % [0,3-0,8] dans un modèle ajusté sur âge, État, statut tabagique, allergie, âge de début d'asthme (enfant *versus* adulte)) suggérant un possible biais du travailleur sain (les asthmatiques sujets à des exacerbations pourraient éviter les expositions qui déclenchent les symptômes).

Une étude de Patel et coll. portant sur une population de plus de 11 000 exploitants agricoles, a montré un risque d'asthme actif augmenté avec l'utilisation de pesticides, d'herbicides et d'insecticides sans distinction. Aucune association n'était retrouvée avec les matières actives considérées individuellement, à l'exception d'une association positive proche de la significativité statistique pour le glyphosate (OR = 1,3 ; IC 95 % [0,97-1,8]), après ajustement sur sexe et région (Patel et coll., 2018).

En Colombie, un programme gouvernemental vise à lutter contre la culture illicite de coca par des pulvérisations aériennes d'herbicides (principalement le glyphosate). Sur la base des données de pulvérisation de l'herbicide et de données médico-administratives, une étude a mis en évidence une augmentation statistiquement significative du nombre de consultations médicales pour problèmes respiratoires dans les 15 jours suivant la pulvérisation de pesticides. Cette étude suggère un effet à court terme de cette exposition dans une situation d'usage massif sur la santé respiratoire (Camacho et Mejía, 2017).

En résumé, la présomption d'un lien entre glyphosate et santé respiratoire est faible, avec un nombre limité d'études (la plupart issues de la cohorte

AHS) qui montrent un excès de risque de sifflements (allergiques ou non) et d'asthmes.

### **Maladie de Parkinson**

Deux études, menées dans les États américains de Washington (Caballero et coll., 2018) et Nebraska (Wan et Lin, 2016), ont mis en évidence une augmentation de risque significative pour la maladie de Parkinson et l'exposition environnementale au glyphosate. La première a estimé la relation entre l'exposition aux pesticides au domicile et la mortalité prématurée par la maladie (définie comme < 75 ans) entre 2011 et 2015. Les auteurs ont combiné des données géospatiales d'utilisation des sols et des données d'application de pesticides obtenues par enquête auprès d'agriculteurs pendant cette période pour définir une matrice culture-exposition (Caballero et coll., 2018). Les personnes habitant au moment du décès à moins de 1 000 mètres d'un terrain traité par pesticides étaient considérées exposées. Les auteurs ont sélectionné 4 pesticides : glyphosate, diazinon, atrazine, paraquat. Les analyses ont été ajustées sur le sexe, l'origine ethnique, le statut marital et le niveau d'éducation. Les expositions des décès précoces ( $\leq 74$  ans,  $n = 659$ ) ont été comparées à celles des décès tardifs ( $\geq 75$  ans,  $n = 3\,932$ ). Aucune association significative n'a été mise en évidence entre l'exposition aux pesticides (tous types confondus) et la mortalité prématurée par maladie de Parkinson (OR = 1,19 ; IC 95 % [0,98-1,44]). L'association était significative pour l'exposition résidentielle au glyphosate (RR = 1,33 ; IC 95 % [1,06-1,67]) mais pas pour les autres pesticides évalués. Des modèles multivariés tenant compte de l'exposition à plusieurs pesticides n'ont pas été réalisés. La principale limite de cette étude est le recours aux certificats de décès pour identifier les cas de maladie de Parkinson, car de manière générale, le diagnostic est indiqué sur les certificats de décès pour seulement environ 50 % des cas (Paulson et Gill, 1995 ; Goldacre et coll., 2010 ; Benito-León et coll., 2014). De plus, la comparaison des taux de décès par âge nécessiterait de prendre en compte des facteurs de confusion (tabagisme, activité physique) dont la fréquence a considérablement changé au cours du temps.

Un registre de population collectant les nouveaux cas de maladie de Parkinson au Nebraska a permis d'identifier 6 557 cas incidents entre 1997 et 2008 et de réaliser une analyse écologique (Wan et Lin, 2016). L'occupation du sol pour 19 cultures agricoles a été déterminée à partir d'images satellites (2005) et 5 d'entre elles ont été retenues car majoritaires dans cet État. L'utilisation de pesticides pour chaque culture a été déterminée à partir de plusieurs types de sources, incluant des données publiques (*US Geological Survey, National*

Center for Food and Agricultural Policy) et des enquêtes auprès d'agriculteurs. Vingt pesticides (15 herbicides, 5 insecticides dont 2 carbamates et 3 organophosphorés), pour lesquels les données étaient considérées suffisamment complètes par les auteurs, ont été retenus pour les analyses. Un système d'information géographique a été utilisé pour ensuite déterminer la distribution spatiale de l'exposition à ces pesticides. Après ajustement sur l'âge, l'incidence de la maladie de Parkinson dans les comtés de l'État n'était pas associée à l'exposition aux pesticides. Toutefois, après exclusion du groupe de référence des comtés qui présentaient l'incidence la plus élevée de maladie de Parkinson et étaient caractérisés par une faible exposition aux pesticides, l'incidence était plus élevée dans les comtés fortement exposés à l'atrazine, le bromoxynil, l'alachlore, la métribuzine et le glyphosate. Dans un modèle multi-ajusté qui prenait en compte les cinq produits et la densité des cultures, seul l'alachlore était associé significativement à l'incidence de la maladie de Parkinson. L'analyse écologique au niveau des comtés, qui sont des unités géographiques de relativement grande taille, et l'absence d'ajustement sur des facteurs de confusion autres que l'âge, sont des limites de cette étude. Les relations mises en évidence n'apparaissaient qu'après exclusion *a posteriori* des comtés qui présentaient l'incidence la plus élevée et qui d'après les auteurs sont des comtés caractérisés par une forte présence d'élevage mais pas d'autres cultures. Toutefois, l'incidence élevée dans ces comtés demeure inexpiquée.

Dans une étude publiée en 2007 à partir des données de l'AHS (Kamel et coll., 2007), les auteurs ont identifié, à partir d'un diagnostic auto-déclaré de maladie de Parkinson, 83 cas prévalents à l'inclusion (1993-1997) et 78 cas incidents à la fin du suivi (1999-2003). Leur diagnostic n'avait pas été validé par un examen neurologique standardisé. L'exposition professionnelle des cas a été comparée à celle des participants sans maladie de Parkinson (79 557 à l'inclusion et 55 931 à la fin du suivi). Les auteurs ont étudié l'exposition à 43 pesticides spécifiques dont le glyphosate ; il n'existait pas d'association entre cette molécule et la maladie de Parkinson prévalente (OR = 1,0 ; IC 95 % [0,6-1,7]) ou incidente (OR = 1,1 ; IC 95 % [0,6-2,0]).

En France, une étude cas-témoins (224 cas dont 118 hommes, 557 témoins dont 291 hommes), a été réalisée auprès des affiliés de la Mutualité sociale agricole (Elbaz et coll., 2009). L'exposition professionnelle aux pesticides a été évaluée en utilisant une procédure en deux étapes : entretiens avec des médecins du travail puis expertise au cas par cas des questionnaires d'exposition. L'association entre 29 familles de pesticides et la maladie de Parkinson a été évaluée, en particulier pour le glyphosate qui était le seul pesticide inclus dans la famille des herbicides organophosphorés ; il n'existait pas d'association significative chez les hommes (OR = 1,5 ; IC 95 % [0,8-2,7]).

En résumé, deux études écologiques s'intéressent à la maladie de Parkinson et à son lien avec l'exposition résidentielle au glyphosate. L'une conclut à un excès de risque et l'autre, après ajustement à d'autres pesticides, à une absence de risque. La nature écologique de ces études ne permet pas d'inférer un lien de causalité. Deux études sur l'exposition professionnelle au glyphosate n'ont pas rapporté d'association significative.

### **Troubles anxio-dépressifs**

Une association a été mise en évidence entre les symptômes dépressifs et l'exposition aux pesticides chez 220 travailleurs agricoles d'une région à forte activité agricole caféière au Brésil (Conti et coll., 2018). L'exposition aux pesticides (sans distinction de familles chimiques ou de matières actives) était associée à un risque multiplié par 5 de présenter un score élevé de symptômes dépressifs (OR = 5,5 ; IC 95 % [1,2-25,9]). Par contre, l'exposition spécifique au glyphosate (concernant 38,6 % des travailleurs) n'était pas associée au risque de développer des symptômes dépressifs.

Une étude cas-témoins en France a évalué de manière transversale le lien entre les pesticides et l'existence d'une dépression auto-déclarée et traitée ou prise en charge à l'hôpital (Weisskopf et coll., 2013). Seuls les individus ayant travaillé en agriculture ont été retenus (n = 567). Les analyses portent sur les familles de pesticides identifiées chez plus de 5 % des personnes non dépressives. Treize familles d'herbicides ont été évaluées, parmi lesquelles les organophosphorés comprenant le glyphosate et herbicides apparentés. L'analyse portant sur 83 patients met en évidence une élévation du risque de dépression en lien avec l'utilisation d'herbicides (HR = 1,93 ; IC 95 % [0,95-3,91]), plus marquée et devenant significative lorsque cette utilisation dépassait 19 années (HR = 2,31 ; IC 95 % [1,05-5,10]) ou lorsqu'on prenait en compte le nombre d'heures d'exposition. Les analyses restreintes aux familles d'herbicides ont révélé des associations significatives seulement pour les carbamates, les dinitrophénols et l'acide picolinique. Il n'était donc pas mis spécifiquement en évidence de lien avec le glyphosate et les molécules apparentées.

### **Pathologies de la thyroïde**

Dans la cohorte AHS (Shrestha et coll., 2018b), l'auto-déclaration d'une hypothyroïdie à l'inclusion (n = 829) a été étudiée en relation avec l'utilisation d'une liste de 50 pesticides au cours de la vie, ainsi qu'avec un indicateur d'exposition cumulée (nombre de jours d'utilisation au cours de la

vie, pondéré par l'intensité ; classé en trois ou quatre catégories selon les effectifs). Cette mesure d'exposition par questionnaire était réalisée au moment de l'inclusion chez 35 150 applicateurs professionnels (98 % hommes) avec un suivi de 20 ans. Des analyses de sensibilité ont été réalisées pour évaluer l'impact de l'attrition (nombre de sujets perdus de vue lors du suivi), qui se sont révélées sans impact sur la mesure de l'association. Dans cette étude, après ajustement sur sexe, âge, région et tabagisme, le risque d'hypothyroïdie était augmenté chez les participants qui avaient utilisé quatre insecticides organochlorés (aldrine, heptachlore et lindane parmi les participants de plus de 62 ans ; chlordane chez l'ensemble des participants), quatre insecticides organophosphorés (coumaphos chez les plus âgés ; diazinon, dichlorvos, et malathion chez l'ensemble des participants) et trois herbicides (dicamba, glyphosate, et 2,4-D chez l'ensemble). Les HR (*Hazard ratio*) étaient compris entre 1,21 ; IC 95 % [1,04-1,41] pour le chlordane et 1,54 ; IC 95 % [1,23-19,4] pour le lindane chez les plus de 62 ans ; pour le glyphosate il était de 1,28 ; IC 95 % [1,07-1,52]. Lorsque l'usage de glyphosate était modulé par la durée et l'intensité d'exposition, seules les personnes exposées dans le premier et deuxième tercile (comparé au groupe de référence constitué par les non-utilisateurs) présentaient un risque significativement augmenté (HR = 1,27 ; IC 95 % [1,03-1,69] et HR = 1,38 ; IC 95 % [1,12-1,69] respectivement). Le risque n'était plus significatif chez les personnes les plus exposées (HR = 1,17 ; IC 95 % [0,94-1,45]) et la relation dose-réponse non significative ( $p = 0,95$ ).

Dans une autre étude de la cohorte AHS (Lerro et coll., 2018), une association modérée et non significative était observée entre l'exposition au glyphosate et une augmentation de la TSH (*thyroid-stimulating hormone*) circulante pour le 4<sup>e</sup> quartile d'exposition comparé au groupe de référence non exposé (OR = 1,14 ; IC 95 % [0,99-1,33]). Toutes les associations étaient ajustées sur l'âge, la région, l'IMC, le tabagisme et sur les autres pesticides associés au pesticide étudié.

Chez les épouses des applicateurs de cette même cohorte, une analyse longitudinale a été menée après un suivi de 20 ans (Shrestha et coll., 2018a). Elle incluait 1 627 cas rapportés d'hypothyroïdie et 531 d'hyperthyroïdie. L'utilisation de glyphosate en particulier n'était pas associée au risque d'hypothyroïdie (HR = 1,07 ; IC 95 % [0,95-1,20]).

En résumé, les données sur l'exposition au glyphosate proviennent toutes de la cohorte AHS. Un excès de risque d'hypothyroïdie chez les hommes applicateurs de pesticides est observé mais n'est pas retrouvé chez leurs épouses applicatrices de pesticides.

## Anomalies de la grossesse et maladies chez les enfants

Une étude de cohorte réalisée chez 71 femmes en Inde a rapporté une corrélation négative entre les concentrations urinaires en glyphosate mesurées au cours de la grossesse et la durée de gestation (Parvez et coll., 2018). Aucune corrélation n'a été observée avec le poids de naissance ou le périmètre crânien.

Une revue systématique de la littérature explorant le lien entre une exposition au glyphosate et des anomalies de grossesse, des maladies chez les enfants ou une modification du sexe ratio a été récemment conduite (De Araujo et coll., 2016). Aucune association entre le glyphosate et des anomalies sur la grossesse et la descendance n'a été trouvée à l'exception d'un syndrome d'hyperactivité (*Attention Deficit Hyperactivity Disorder*) avec un OR = 3,6 ; IC 95 % [1,3-9,6] chez les enfants nés de parents applicateurs de glyphosate. L'étude qui rapportait cette association a été menée chez des enfants âgés d'un an et plus dont les parents étaient agriculteurs dans la *Red River Valley* (Minnesota) exposés aux herbicides incluant des GBH (Garry et coll., 2002).

Une étude cas-témoins réalisée dans la région de la vallée centrale de Californie aux États-Unis (von Ehrenstein et coll., 2019) a montré un risque augmenté de survenue de troubles du spectre autistique chez les enfants en lien avec une exposition prénatale à certains pesticides estimés par la présence d'une exploitation agricole employant des pesticides à moins de 2 000 m de la résidence maternelle. Parmi les pesticides associés à cette augmentation de risque figure le glyphosate (OR = 1,16 ; IC 95 % [1,06-1,27]).

Une étude cas-témoins réalisée en Caroline du Nord aux États-Unis s'est intéressée aux liens entre une exposition prénatale à des pesticides estimés par leur emploi à moins de 500 m du lieu de résidence maternelle et le risque de survenue de malformations (Rappazzo et coll., 2019). Un risque augmenté de malformations cardiaques septales a été constaté en lien avec la proximité à des exploitations agricoles employant du glyphosate mais aussi de la cyhalothrine, du S-métolachlore, du mépiquat, ou de la pendiméthaline.

Dans une étude écologique réalisée en Colombie, les auteurs ont rapporté une augmentation de consultations pour fausses-couches en lien avec des campagnes d'épandage d'herbicides dans la lutte contre les cultures illicites (Camacho et Mejía, 2017).

## Maladie rénale chronique d'étiologie inconnue

L'hypothèse du rôle du glyphosate dans la survenue de maladies rénales chroniques a été évoquée à partir des années 1990, plus particulièrement dans des zones tropicales (Sri Lanka, Inde, Égypte, Amérique Centrale), suite à des épidémies de ces affections chez des travailleurs agricoles. Ces maladies rénales chroniques de cause inconnue surviennent chez des personnes jeunes, plus souvent des hommes, travaillant en agriculture, et elles auraient entraîné la mort prématurée de plusieurs dizaines voire centaines de milliers d'entre elles. Dans certaines de ces zones tropicales, la prévalence de ces maladies serait de l'ordre de 15 % chez les adultes de moins de 70 ans (Jayasumana et coll., 2015a), et ne s'explique pas par la présence de diabète, d'hypertension ou de glomérulonéphrite. Des explorations biologiques ont mis en évidence une élévation de la créatinine plasmatique dans une phase préclinique, évoquant une atteinte de la filtration glomérulaire et les lésions anatomopathologiques chez les patients sont en faveur d'une néphropathie toxique. Diverses hypothèses ont été émises pour expliquer la survenue de ces atteintes rénales : la déshydratation liée au travail physique en zone chaude, l'exposition à des métaux (comme le cadmium ou le plomb), des pesticides, des mycotoxines (comme l'ochratoxine A, la citrinine).

Une étude cas-témoins a été menée au Sri Lanka (125 cas et 180 témoins hospitaliers) et a identifié, après ajustement sur l'âge, le sexe, le niveau d'études et les antécédents familiaux de cette maladie, un lien avec la consommation d'eau du puits (OR = 2,52 ; IC 95 % [1,12-5,70]) atteignant un quintuplement du risque lorsque l'eau provenait d'un puits abandonné (le glyphosate y était plus souvent détecté ; OR = 5,43 ; IC 95 % [2,88-10,26]), ainsi qu'avec l'usage de glyphosate (OR = 5,12 ; IC 95 % [2,33-11,26]). Des élévations de risque étaient observées pour d'autres pesticides (MCPA, bispyribac, mancozèbe) mais les niveaux de risque apparaissaient moins élevés qu'avec le glyphosate (Jayasumana et coll., 2015a).

En 2014, une étude prospective incluant 350 hommes et femmes travaillant en agriculture (cane à sucre et banane) âgés de 18 à 30 ans, a été mise en place au Nicaragua, afin de suivre tous les 6 mois leur fonction rénale et d'objectiver leurs expositions. Des mesures dans les urines à l'inclusion et à 6 mois ont été réalisées pour les éléments suivants : aluminium, arsenic, cadmium, chrome, cobalt, cuivre, plomb, manganèse, mercure, sélénium, silicium et strontium ainsi que pour l'ochratoxine A et la citrinine. Pour les pesticides, les dosages urinaires ont porté sur : 2,4-D, MCPA, glyphosate, des métabolites d'insecticides dont les pyréthrinoïdes, et des métabolites de fongicides triazoles, pyrimidines, et dithiocarbamates. Le glyphosate a été détecté dans environ 30 % des échantillons urinaires (limite de détection 0,1 µg/l).

Bien qu'environ 10 % des hommes et 3 % des femmes aient présenté une chute rapide de la fonction rénale après 2 ans de suivi, il n'a pas été mis en évidence de différence entre leurs niveaux urinaires pour les différents contaminants mesurés et ceux des personnes dont la fonction rénale était restée stable (Smpokou et coll., 2019).

En résumé, il n'est pas aujourd'hui possible de conclure sur l'étiologie de cette maladie rénale devenue un important problème de santé publique dans plusieurs pays tropicaux, même si des facteurs liés aux activités agricoles ou au mode de vie rural ont été retrouvés dans la plupart des endroits. L'implication de pesticides reste une piste d'intérêt mais il existe aujourd'hui trop peu d'éléments pour conclure au rôle spécifique du glyphosate.

## Données toxicologiques

Le mode d'action du glyphosate en tant qu'herbicide consiste en une inhibition de la 5-énolpyruvyl-shikimic acid-3-phosphate synthase (EPSPS) qui participe à la synthèse d'acides aminés aromatiques chez les plantes, les champignons et certaines bactéries (voie du shikimate) mais aussi à une inhibition de la phosphoénolpyruvate carboxylase (plantes en C4 et crassulacées) et de l'activité nitrogénase (qui permet chez certaines bactéries, la formation de  $\text{NH}_3$  à partir de l'azote atmosphérique). Contrairement aux plantes, bactéries et champignons, les animaux ne possèdent pas de gène codant l'EPSPS.

Un des objectifs de cette contribution consiste à qualifier les différents mécanismes de toxicité du glyphosate chez les animaux. L'abondante littérature sur les essais *in vitro* ou *in vivo* rapporte souvent des études avec des niveaux de traitement ou d'exposition élevés. Cette pratique est utilisée par les toxicologues des essais réglementaires qui utilisent des gammes de concentrations (élevées à moins élevées) pour mettre en évidence un effet critique. En conséquence, nous n'avons pas pris en compte de nombreuses publications issues d'expérimentations *in vitro* réalisées à forte dose. Par exemple, des essais de génotoxicité *in vitro* sont difficilement interprétables si le pourcentage de mort cellulaire est élevé.

## Études de cancérogenèse chez l'animal

Des études de cancérogénicité à 2 ans chez le rat et 18 mois ou 2 ans chez la souris, exposés par voie orale (sauf une par voie dermale), ont été réalisées et les résultats analysés par différentes agences. L'agence européenne dans le cadre d'une réévaluation de l'autorisation du glyphosate a mandaté un comité

d'expertise coordonné par l'Institut fédéral allemand d'évaluation des risques (BfR). Le nombre d'études retenues par ce comité sont, pour le modèle souris et rat respectivement de 6 et 10. Le Circ a évalué 3 et 7 études pour le modèle souris et rat parmi celles rapportées dans le document du BfR (tableau 19.IV, voir en fin de ce chapitre). Le comité d'experts du Circ conclut à une augmentation d'incidence de tumeurs pour certaines études à la fois chez la souris et le rat alors que le BfR considère que les résultats de cancérogenèse chez les rongeurs sont négatifs. Les deux instances s'accordent sur 1 étude mal conduite chez les souris et 3 chez les rats ainsi que 2 résultats négatifs chez les rats. Quels sont les arguments scientifiques avancés par l'Efsa et l'Echa pour invalider les résultats considérés comme positifs par le Circ ?

### ***Chez la souris***

- Excès d'hémangiosarcomes chez les mâles (Atkinson et coll., 1993a) à forte dose avec cependant une absence de différence significative en comparant les valeurs par paire (test Fisher). Ce résultat est considéré comme négatif par l'Echa et l'Efsa avec une incidence observée qui relèverait d'un effet spontané non relié au traitement. Le test de tendance est significatif chez les mâles, il reste donc difficile d'interpréter ce résultat et d'occulter complètement cette augmentation.
- Excès d'adénomes rénaux chez les mâles de la souche CD-1 observé à la plus forte dose d'exposition (4 841 mg/kg pc/j) (Knezevich et Hogan, 1983), ceci n'est pas retrouvé chez les femelles. Ce résultat est considéré comme négatif pour les tumeurs rénales par l'Echa et l'Efsa considérant que l'augmentation n'est retrouvée qu'à forte dose et qu'un seul sexe est concerné. De plus, un autre pathologiste (EPA, 1985b) a ré-évalué les lames et conclu à la présence d'une tumeur dans le groupe contrôle et indiqué que la nature des tumeurs (adénome ou carcinome) était difficile à évaluer.
- Excès de lymphomes malins chez les mâles et les femelles dans une étude de cancérogénicité orale sur la souris Swiss (Kumar, 2001). La preuve d'effet cancérogène a été jugée limitée. Par ailleurs, l'Efsa remet en question la validité de l'étude en raison d'une infection virale pour tous les groupes de souris, considérant que cette infection peut retentir sur la survie et l'incidence des tumeurs, notamment des lymphomes (Efsa, 2015a). Cependant, la conclusion de l'Efsa a été remise en cause par l'Echa qui n'a pas pu mettre en évidence une infection virale (Echa, 2016). De plus, les résultats varient en fonction de l'analyse statistique, il est donc difficile d'exclure un résultat positif.
- L'étude de Wood et coll., non considérée par le Circ, est rapportée comme négative par l'Echa et l'Efsa (Wood et coll., 2009b). Cependant, l'analyse

de l'incidence des lymphomes donne un résultat positif uniquement chez les mâles, résultat non retenu par le BfR. On peut noter un résultat positif pour les mâles, difficile à interpréter.

### **Chez le rat**

- Excès d'adénomes des îlots pancréatiques (différence significative pour un ou plusieurs lots sans progression vers la malignité) chez les mâles dans une étude de cancérogénicité orale (Stout et Ruecker, 1990). Un excès de l'incidence combinée des adénomes et carcinomes à la plus faible dose est également observé. Les résultats étaient considérés comme positifs pour l'adénome par l'Echa et l'Efsa aux doses élevées.
- Excès d'adénomes thyroïdiens à cellules C chez les femelles, sans évolution vers le carcinome (Stout et Ruecker, 1990). Ce résultat est considéré comme positif pour les adénomes et comme négatif pour les adénocarcinomes. Cependant, l'incidence spontanée de cette tumeur bénigne est assez élevée (de l'ordre de 4-10 %) chez les rates de la souche Sprague-Dawley avec une évolution très rare vers l'adénocarcinome (ATSDR, 2019).

La discussion sur le test statistique à utiliser, la prise en compte des témoins historiques ainsi que le développement de certaines tumeurs bénignes qui n'évoluent pas vers le cancer constituent la base de l'argumentaire du BfR. On notera que les valeurs observées pour les témoins historiques sont fonction du lieu d'expérimentation, de la souche, de la date, du nombre d'animaux et en conséquence ne sont pas généralisables (Clausing et coll., 2018).

En résumé, les données de cancérogenèse expérimentale entre l'exposition au glyphosate et l'occurrence de quelques types de tumeurs établissent un lien mais généralement limité à un seul sexe et selon les cas sur des lignées sensibles ou à très fortes doses d'exposition. Au vu de cet ensemble de résultats, le niveau de preuve de cancérogénicité chez le rongeur est non nul mais relativement limité.

### **Études de génotoxicité**

Une batterie de tests *in vitro* et *in vivo* est utilisée par les agences suivant les lignes directrices de l'OCDE pour caractériser un effet génotoxique c'est-à-dire conduisant à un ou plusieurs types de dommages de l'ADN comme des cassures (évaluées par le test des comètes), d'aberrations chromosomiques (test des micronoyaux, test d'échange de chromatides sœurs, test d'aberrations chromosomiques) ou d'adduits à l'ADN (test de synthèse non

programmée de l'ADN [*Unscheduled DNA Synthesis test* ; UDS]). Ces modifications de l'ADN sont susceptibles de conduire à des mutations soit ponctuelles, soit de réarrangements chromosomiques.

Un des tests actuellement très utilisé, notamment dans les études décrites ci-dessous, pour caractériser un effet « cassures de l'ADN » (c'est-à-dire clastogène) induit par un agent génotoxique (ou lors de processus comme l'apoptose ou suicide cellulaire) est le test des comètes. Il s'agit d'une technique d'électrophorèse sur agarose, conduite très souvent en condition alcaline, réalisée sur différents types cellulaires en culture (*in vitro*) ou provenant d'animaux (*in vivo*) exposés par exemple au glyphosate ou aux GBH. Les cellules sont incluses dans un gel d'agarose à bas point de fusion puis lysées par incubation avec un détergent en condition alcaline, leurs noyaux libérés sont alors soumis à une électrophorèse puis l'ADN est révélé après neutralisation par un agent intercalant fluorescent. En l'absence de dommages, l'ADN forme une sphère compacte. En cas de dommages, des comètes atypiques sont produites pour des concentrations cytotoxiques et le test doit être réalisé dans une gamme de concentrations *in vitro* dont la plus élevée correspond à environ 20 % de mortalité cellulaire ( $DL_{20}$ ). L'essai des comètes en condition alcaline a pour conséquence de quantifier non seulement la présence de cassures simple ou double-brin d'ADN mais aussi de sites alcali-labiles. Enfin, l'utilisation d'endonucléases reconnaissant les bases oxydées telles que la Fpg (Formamidopyrimidine-DNA glycosylase) ou l'endo III (endonucléase III) produites par *E. coli* ou encore la hOGG1 (*8-oxoguanine DNA N-glycosylase 1*) produite par les cellules humaines permet de quantifier les bases oxydées de l'ADN, un des signes de production d'un stress oxydant. Cette technique est utilisée par les laboratoires académiques et en toxicologie réglementaire car elle est non invasive, sensible, rapide et quantitative. Par contre, il est particulièrement délicat de comparer des résultats si les électrophorèses n'ont pas été réalisées en parallèle (par exemple d'études différentes).

Des résultats positifs et négatifs ont été obtenus sur la base de tests *in vitro* ou *in vivo* d'exposition au glyphosate et aux GBH et sont présentés ci-dessous. Pour rappel, nous n'avons pas pris en compte de nombreuses publications issues d'expérimentations *in vitro* réalisées à forte dose, car des essais de génotoxicité de ce type sont difficilement interprétables si le pourcentage de mort cellulaire est élevé.

### **Mise en évidence d'un effet génotoxique**

- **Tests *in vitro* sur des cellules sanguines leucocytaires**

De nombreuses publications rapportent des évènements clastogènes sur des systèmes animaux ou végétaux. Quelques exemples récents de mise en évidence d'induction de cassures de l'ADN sont mentionnés ci-après.

L'exposition de cellules mononuclées de sang périphérique (plus connues sous le nom de « *peripheral blood mononuclear cells* », ou PBMC, constituées de lymphocytes et monocytes) au glyphosate à la concentration de 42,3 mg/l (0,25 mM) provoque la formation de dommages à l'ADN détectés par le test des comètes en conditions alcalines, qui ne sont pas tous réparables (Kwiatkowska et coll., 2017). Une deuxième étude utilisant le même modèle avec une gamme de produits (glyphosate, AMPA ou Roundup 360 PLUS) plus élargie a été conduite plus récemment (Woźniak et coll., 2018) et montre que la formulation Roundup 360 PLUS induit des comètes en milieu alcalin dès 5 µM pour une concentration de glyphosate 50 à 100 fois inférieure à celles obtenues respectivement avec le glyphosate pur (0,25 mM, égal à 42,3 mg/l) et l'AMPA (0,5 mM, égal à 55,5 mg/l). Ces résultats ne s'expliquent pas par une cytotoxicité générale, car la viabilité des cellules exposées au glyphosate à 169 mg/l (1 mM) est de 98,8 % (Woźniak et coll., 2018). La nature des cassures a été caractérisée dans cette étude ; ainsi, des cassures double-brins sont observées à 1,69 mg/l (10 µM) de glyphosate sous forme de Roundup 360 PLUS et 169 mg/l (1 mM) pour le glyphosate pur. Parmi les pistes mécanistiques explorées pour expliquer ces cassures, les auteurs constatent une augmentation de production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ou *Reactive Oxygen Species* ; ROS) suite à l'exposition au Roundup 360 PLUS et au glyphosate (Woźniak et coll., 2018) dont les potentiels effets mécanistiques seront détaillés plus loin. La comparaison de ces deux études montre que la formulation conduit à un effet génotoxique bien plus prononcé que le glyphosate seul.

D'autres modèles cellulaires sanguins proches peuvent être utilisés. Les effets cytotoxiques et génotoxiques ont été évalués à l'aide respectivement du test MTT (qui mesure l'activité de déshydrogénases intracellulaires) et du test des comètes sur des cellules de lymphome de Burkitt (lignée Raji) exposées au glyphosate pendant 20 à 120 min à des concentrations entre 0,017 et 2 535 mg/l (0,1 µM et 15 mM). La cytotoxicité est observée à 1 690 mg/l (10 mM) alors que des cassures sont quantifiées à 169 et 845 mg/l (1 et 5 mM) à des temps courts, et absentes pour des temps longs indiquant une capacité de réparation de ces cassures par les cellules. Les auteurs concluent que pour des concentrations allant jusqu'à 16,9 mg/l (100 µM), le glyphosate n'est pas cytotoxique et ne produit pas de cassures de l'ADN détectables (Townsend et coll., 2017) probablement en raison d'un mécanisme efficace de réparation des cassures simple-brin (dépendant de XRCC1/PARP/Lig3) et/ou double-brin (dépendant de Ku70-80/DNA-PK/Lig4). Ce résultat est différent de celui obtenu avec les PBMC et peut s'expliquer par le fait que ces dernières ne répliquent pas leur ADN et de ce fait, présentent une activité de réparation des cassures faible ou absente alors que les cellules Raji se

divisent rapidement et possèdent des mécanismes efficaces de réparation des dommages à l'ADN (la réplication étant un processus potentiellement génotoxique). Ces résultats montrent donc que le choix du modèle cellulaire est clé pour évaluer la génotoxicité (et la cytotoxicité).

Le choix de l'espèce peut également être important. Par exemple, l'exposition de lymphocytes de tatou (*Chaetophractus villosus*) au glyphosate à des concentrations de 65, 97,5, 130 et 260 mg/l (sous forme de Roundup Full II) induit un effet génotoxique avec des aberrations chromosomiques (130 mg/l), et des échanges de chromatides sœurs (65 mg/l) (Luaces et coll., 2017). Ces concentrations de glyphosate sont beaucoup plus importantes que celles identifiées avec les PBMC (mais le produit utilisé est aussi différent).

Enfin, l'AMPA induit des cassures de l'ADN sur des lymphocytes humains exposés à 200 mg/l (1,8 mM) (Mañas et coll., 2009a), concentration sans effet sur la valeur de l'index mitotique. Cette activité génotoxique de l'AMPA pourrait être importante à prendre en compte car les plantes et les microorganismes du sol sont capables de métaboliser le glyphosate en AMPA et qu'il se retrouve dans les sols, les résidus des plantes et dans l'eau (Mamy et coll., 2016 ; Tong et coll., 2017).

- **Tests in vitro sur d'autres modèles cellulaires**

D'autres modèles que les cellules sanguines leucocytaires pré-décrites ont été étudiés, compte tenu de la distribution du glyphosate dans l'organisme qui peut affecter aussi bien les cellules sanguines que l'ensemble des organes.

Des cellules épithéliales humaines buccales (lignée TR146) ont été exposées au glyphosate ou au Roundup Ultramax (Koller et coll., 2012). Des effets génotoxiques significatifs en test des comètes sont observés dès 20 mg/l de glyphosate pur et pour le test des micronoyaux (un autre test de génotoxicité) dès 20 mg/l de glyphosate sous forme du GBH Roundup Ultramax (sans atteinte de l'intégrité cellulaire) avec des marqueurs activés de la mort cellulaire dès 20 mg/l pour ces formulations (nécrose pour les deux, apoptose avec le glyphosate pur).

Des cellules hépatiques humaines de la lignée HepG2 ont été exposées à 0,5, 2,91 et 3,5 mg/l de glyphosate pendant 4 ou 24 h. La dose de 0,5 mg/l induit des dommages oxydatifs et des cassures de l'ADN après 24 h d'exposition (Kaüba et coll., 2017).

Des cellules Hep-2 exposées au glyphosate donnent un résultat positif en test des comètes à partir de 3 mM (500 mg/l) (Mañas et coll., 2009b). Sur ces mêmes cellules, l'effet génotoxique de l'AMPA a été analysé par le test

des comètes ; il provoque des cassures à l'ADN à partir de 2,5 mM (277 mg/l) (Mañas et coll., 2009a).

L'exposition de cellules ovariennes de hamster (CHO-K1) à l'AMPA conduit à la production de micronoyaux à une dose 1 000 fois inférieure à celle du glyphosate nécessaire pour obtenir le même effet (Roustan et coll., 2014). Cependant la très faible métabolisation hépatique (< 1 %) explique le faible effet mutagène observé avec le glyphosate (BfR, 2015a).

- **Tests in vivo**

Différents modèles *in vivo* peuvent être utilisés pour évaluer des effets génotoxiques (souris, poissons, crustacés...).

Des effets génotoxiques sont observés sur des cellules rénales et hépatiques de souris traitées par deux injections intra-péritonéales de 300 mg/kg de glyphosate (concentration élevée) après 4 h d'exposition (mais pas après 24 h), ainsi que la formation de micronoyaux dans la moelle (Bolognesi et coll., 1997). Cet effet est aussi relevé par Mañas et coll. qui montre un effet génotoxique à 200 mg/kg du glyphosate (deux injections intra-péritonéales à 24 h d'intervalle) chez la souris (Mañas et coll., 2009b). Avec des doses plus faibles (25 et 50 mg/kg), la présence d'aberrations chromosomiques et de micronoyaux est observée dans la moelle osseuse de souris exposées par voie intra-péritonéale après 24, 48, et 72 h (Prasad et coll., 2009). Les résultats sont positifs pour les deux doses et les différents temps.

L'exposition de poissons (*Channa punctatus*) au Roundup (41 % glyphosate) à des doses sub-létales donc très élevées (1/10<sup>e</sup>, 1/8<sup>e</sup> et 1/5<sup>e</sup> de la DL<sub>50</sub>) provoque des cassures de l'ADN observées dans les hématies et les cellules branchiales dès 3,25 mg/l de glyphosate (1/10<sup>e</sup> de la DL<sub>50</sub>) (Nwani et coll., 2013). Les activités enzymatiques antioxydantes CAT et SOD sont diminuées dans le sang et les branchies dès la plus faible dose d'exposition. L'induction de cassures de l'ADN est aussi détectée par le test des comètes dans les érythrocytes d'un autre type de poissons (*Oreochromis niloticus*) exposés au glyphosate à la dose environnementale de 0,12 mg/l. Des résultats similaires sont obtenus sur des cellules branchiales d'anguilles exposées (*Anguilla anguilla*) au glyphosate ou au Roundup Ultra (Guilherme et coll., 2010 ; Guilherme et coll., 2012 ; Guilherme et coll., 2014) avec la mise en évidence de la production de dommages oxydatifs (8-oxoG) et la diminution des défenses antioxydantes au niveau des branchies et du foie.

Deux modèles de crustacés ont également fait l'objet d'études génotoxiques : l'exposition de crabes (*Eriocheir sinensis*) au glyphosate pendant 96 h aux concentrations de 4,4, 9,8, 44 et 98 mg/l (DL<sub>50</sub> = 98 mg/l), donc très élevées,

provoque des cassures de l'ADN (test des comètes) dès 4,4 mg/l (Hong et coll., 2017). Un stress oxydatif avec présence de dommages génotoxiques est également observé pour des hématies de crevettes exposées au Roundup (41 % glyphosate) pendant 96 h à des doses sub-létales (0,35, 0,70, 1,40, 2,80 et 5,60 mg/l ;  $DL_{50}$  = 11,2 mg/l) (Hong et coll., 2018). L'essai des comètes est positif dès la plus faible concentration et l'induction de micronoyaux dès 1,4 mg/l. Ces effets reposent non exclusivement sur une baisse des défenses antioxydantes (SOD, CAT) dès 0,35 mg/l comme sur le modèle de poisson *Channa punctatus*. Des événements clastogènes tels que l'induction de cassures de l'ADN d'aberrations chromosomiques sont aussi rapportés chez les plantes (Lioi et coll., 1998 ; Alvarez-Moya et coll., 2011 ; Frescura et coll., 2013).

En résumé, sur différents modèles expérimentaux, de nombreux résultats sont positifs en test des comètes *in vitro* et *in vivo*. Toutefois, les protocoles sont très variables en matière de modèles, de temps d'exposition, de types de produits utilisés (glyphosate ou formulations) et de doses. Lorsque les études sont réalisées en parallèle, les effets génotoxiques sont obtenus pour de plus faibles concentrations de glyphosate utilisées sous forme de GBH par comparaison au principe actif seul. En comparaison des niveaux d'exposition, plusieurs tests *in vitro* observent des effets génotoxiques à des concentrations proches de celles qui peuvent être détectées dans l'environnement. À titre d'exemple, en France, les concentrations de glyphosate ne dépassent pas 0,07 mg/l dans les eaux de surface, cette valeur est donc proche de celle induisant des effets génotoxiques sur *Oreochromis niloticus* (soit 0,12 mg/l) (Alvarez-Moya et coll., 2014).

### ***Pas de mise en évidence d'un effet génotoxique***

- **Tests in vitro**

Deux études ont rapporté que les hépatocytes de rat exposés *in vitro* au glyphosate montrent une absence d'induction de synthèse non programmée de l'ADN (test UDS) (Li et Long, 1988 ; Rossberger, 1994). Néanmoins, cette méthode est aujourd'hui considérée comme insuffisamment sensible et la ligne directrice de l'OCDE correspondante (OCDE essai n° 486) n'a pas été mise à jour et d'autres tests tels que l'essai des comètes sont recommandés (OECD, 2015). De plus, ce test correspond au marquage d'une réplication suite à un événement d'excision de lésions de l'ADN et le glyphosate n'a pas été démontré comme producteur d'adduits à l'ADN directement ou indirectement. Ces résultats n'apportent donc pas d'informations utilisables sur le plan de l'évaluation du potentiel génotoxique.

Des résultats négatifs ont été mentionnés par le BfR sur la base d'études produites par les industriels, non disponibles pour les experts, car non rendues publiques.

- **Tests in vivo**

Chez les plantes, une absence d'induction d'aberrations chromosomiques est observée suite à l'exposition des bulbes d'oignons (*Allium cepa*) à des concentrations de glyphosate isopropylamine jusqu'à 2,88 mg/l, ( $IC_{50} = 5,5$  mg/l), mais le test est positif pour une exposition à 1,44 et 2,88 mg/l du principe actif sous forme de Roundup ( $IC_{50} = 1,2$  mg/l) avec cependant une absence d'effet dose qui peut être due à l'effet toxique (Rank et coll., 1993). Une absence d'induction de micronoyaux est observée lorsque des fèves (*Vicia faba*) sont exposées pendant 4 jours au glyphosate (De Marco et coll., 1992).

Chez les rongeurs, on observe une absence d'effet chez la souris dans le test du dominant létal (EPA, 1980), une absence d'induction de micronoyaux dans la moelle osseuse chez la souris après une exposition unique par voie intrapéritonéale soit de glyphosate sel d'isopropylamine (100-200 mg/kg) soit de glyphosate sel d'isopropylamine sous forme de Roundup (133 et 200 mg/kg) (Rank et coll., 1993) et une absence d'induction d'aberration chromosomique suite à une exposition unique par voie intrapéritonéale chez le rat (Li et Long, 1988).

En résumé, les études montrant une absence de génotoxicité du glyphosate semblent moins importantes tant sur le plan qualitatif ou quantitatif que celles suggérant un effet positif. Si une comparaison est effectuée entre deux études assez similaires montrant des résultats opposés, comme par exemple chez la souris (exposition intrapéritonéale à 200 mg/kg de glyphosate) (Rank et coll., 1993 ; Mañas et coll., 2009b), il est très intéressant de noter que l'étude de Mañas intègre une deuxième injection 24 h après la première suggérant que la répétition de l'exposition (phénomène plausible) est importante à considérer. La chronicité de l'exposition au glyphosate ou aux GBH représenterait donc un paramètre important. De plus, la réponse positive est plus prononcée avec les préparations commerciales par comparaison au principe actif lorsque les études sont menées en parallèle (et donc comparables). Cette augmentation des effets induits par les préparations commerciales est due aux surfactants ajoutés.

Avec le test des micronoyaux sur modèles vertébrés, différent de celui des comètes classiquement utilisé dans un grand nombre d'études, une méta-analyse de la littérature conclut également à un effet génotoxique (Ghisi

Nde et coll., 2016). Enfin, un dimorphisme sexuel est observé avec un effet plus marqué chez les rongeurs mâles que les femelles.

Parmi ceux présentant des résultats positifs, les doses utilisées sont parfois cohérentes (bien que supérieures) sur le plan de l'exposition environnementale. Les effets génotoxiques relevés sur des modèles expérimentaux moins classiques (poissons, crustacés) ont été mis en évidence par certains auteurs (Alvarez-Moya et coll., 2014 ; Hong et coll., 2017).

### Effets mutagènes

Un test de mutagenèse chez les bactéries (test d'Ames) est négatif avec le glyphosate et ce résultat est retrouvé avec les tests de mutagenèse sur des cellules eucaryotes : mutations au site *Hprt* de cellules CHO ou au locus *Tk* de cellules de lymphome de souris (ensemble des résultats rapportés dans le rapport de l'Echa (Echa, 2016). Toutefois, des résultats positifs ont aussi été rapportés sur un test d'échange de chromatides sœurs réalisé sur des lymphocytes bovins dès 2,87 mg/l (17  $\mu$ M) (Lioi et coll., 1998).

En conclusion, si les résultats obtenus avec les tests de génotoxicité et mutagenicité sont pris en compte dans leur globalité, de nombreux travaux ont été publiés avec des résultats plutôt positifs quant à un effet génotoxique. Par contre, les essais *in vitro* de mutagenèse chez les bactéries ou cellules eucaryotes sont négatifs pour la quasi-totalité des résultats rapportés. Cependant, l'induction directe ou indirecte d'un stress oxydant potentiellement impliqué dans un processus d'instabilité génétique (et susceptible d'expliquer les observations génotoxiques) a été retrouvée pour différentes espèces et systèmes cellulaires. Ce résultat est par exemple retrouvé pour les poissons à des doses d'exposition compatibles avec une exposition environnementale (Nwani et coll., 2013).

### Mécanismes de toxicité

Bien que le glyphosate soit sélectif pour les plantes, ce principe actif peut provoquer des dysfonctionnements aboutissant potentiellement à des pathologies chroniques chez les animaux en rapport avec des modes d'action différents de l'inhibition de la voie métabolique du shikimate. Ainsi, de nombreuses publications rapportent de potentiels effets cancérigènes ou non cancérigènes incluant des effets de type perturbations endocriniennes (PE). Par ailleurs, de nombreuses pathologies des vertébrés dont l'être humain, sont associées à des modifications du microbiote, et on sait que certaines

bactéries expriment l'EPSPS, qui est l'enzyme touché par le glyphosate dans son mode d'action en tant qu'herbicide.

Le croisement des termes « cancer » et « glyphosate » dans des recherches bibliographiques permet d'extraire un certain nombre d'études mécanistiques apparaissant parfois contradictoires mais souvent réalisées dans des conditions expérimentales différentes. Par ailleurs, malgré des doses qui sont parfois relativement élevées, les GBH commercialisés contiennent un pourcentage variable de glyphosate. Par exemple, le « Roundup ready » (360 g/l de glyphosate) est dilué entre 1 et 3 % pour une concentration effective d'usage comprise entre 3,6 et 10,8 g/l (soit 21-64 mM).

Plusieurs marqueurs de toxicité (aiguë/chronique, organites/noyau cellulaire, multi-génération...) peuvent être hiérarchiquement abordés pour présenter le versant mécanistique à commencer par les phénomènes de cytotoxicité.

## Cytotoxicité

Parmi les premières études réalisées, l'utilisation de cultures de tissus d'hépatome de rat (lignée HTC) traitées par des doses élevées de Roundup comprises entre 1 et 10 mM (169 et 1690 mg/l) pour 4 à 48 h (Malatesta et coll., 2008) ne montre pas d'effet sur la viabilité cellulaire mais révèle des modifications de certaines caractéristiques nucléaires, cytoplasmiques et mitochondriales (taille et nombre des vacuoles cytoplasmiques, nombre de lysosomes, modifications structurales chromatiniennes, diminution du ratio de longueur membrane interne/externe de la mitochondrie).

Plus récemment, une libération significative de lactate déshydrogénase (LDH, marqueur de viabilité cellulaire normalement uniquement cytoplasmique) dans le milieu extracellulaire a été constatée sur des cellules épithéliales humaines buccales (lignée TR146), pour des concentrations supérieures à 10 mg/l de glyphosate dans le Roundup et à partir de 200 mg/l avec le glyphosate seul. Ces concentrations sont bien inférieures à celles des solutions pulvérisées qui peuvent se retrouver en contact avec ce type de cellules au niveau buccal ou plus généralement cutané. Une altération des fonctions mitochondriales évaluées par le test XTT est observée avec le Roundup à partir de 60 et 100 mg/l respectivement (mais pas avec le glyphosate). Enfin, le test au rouge neutre est positif avec le Roundup à partir de 100 mg/l de glyphosate (Koller et coll., 2012).

L'utilisation de la microscopie à force atomique (et du « Peak Force Tapping ») sur d'autres cellules épithéliales de peau (lignée HaCaT) traitées avec 2 535 ou 5 070 mg/l (15-30 mM) de glyphosate (donc à des doses élevées

mais également compatibles avec les solutions pulvérisées) pendant de courtes périodes (< 24 h) révèlent aussi des modifications membranaires (aplatissement, changement de la nature des protubérances cellulaires) (Heu et coll., 2012).

La question d'une toxicité cellulaire différentielle entre le glyphosate et les GBH était attendue en raison de la faible toxicité du glyphosate par rapport à celle des agents surfactants, présents parfois à des concentrations élevées (Mesnage et coll., 2013 ; Mesnage et coll., 2015 ; Vanlaeys et coll., 2018). Une analyse du transcriptome de cellules HepaRG exposées au glyphosate à 600 µM, ne montre pas de modifications par rapport au contrôle alors que le GBH peut être 1 000 fois plus efficace sur la réponse transcriptionnelle (Mesnage et coll., 2018).

Sur des cellules de Sertoli (lignée TM4) le Roundup Bioforce est plus toxique que le glyphosate avec un impact mitochondrial délétère dû au coformulant POEA (Vanlaeys et coll., 2018). Le coformulant POEA est rapporté génotoxique à des concentrations non toxiques pour les cellules et potentiellement reprotoxique (Efsa, 2015a). Malgré un manque de données de tests (court et long terme) toxicologiques, cet agent a été interdit<sup>93</sup>.

Au-delà des modèles 2D, l'utilisation des nouveaux modèles 3D peut permettre de produire des résultats certes *in vitro* mais plus proches de la biologie cellulaire. Les effets du glyphosate ont ainsi été testés sur des organoïdes hépatiques révélant une cytotoxicité potentielle dès 42,3 mg/l (0,25 mM). Ce seuil est à 423 mg/l (2,5 mM) pour des organoïdes cardiaques avec des IC<sub>50</sub> sur la production d'ATP (révélateur de la viabilité cellulaire) de l'ordre de 1 690 mg/l (10 mM) et des perturbations des battements des organoïdes cardiaques à partir de 42,3 mg/l (0,25 mM) (Forsythe et coll., 2018). Ces résultats sont relativement cohérents avec ceux obtenus *ex vivo* par Gress et coll. qui ont étudié les effets du Roundup, à des concentrations équivalentes à celles mesurées dans le sang suite à une intoxication aiguë, et du glyphosate sur la fonction cardiaque (rats mâles, lapines). Des dysfonctions cardiaques (arythmies, défauts de conduction) ont en effet été rapportées dans cette étude (Gress et coll., 2015).

## Mitotoxicité

La mitotoxicité, ou perturbations de la fonction mitochondriale, conduisant par exemple à une apoptose ou à la génération d'espèces oxygénées réactives (ERO ou ROS), est associée à de nombreuses pathologies comme événements

93. Commission européenne 2016/1313, règlement d'exécution paru au JO de l'UE du 2 août.

initiateurs ou contributeurs. Différents essais évaluant la mitotoxicité *in vitro* ou *in vivo* sont classiquement utilisés par les laboratoires académiques mais il n'existe pas de systèmes validés par les instances réglementaires. Les résultats de ces études sont présentés ci-dessous.

Une exposition de *Caenorhabditis elegans*, un nématode (petit ver transparent non parasitaire), pendant 24 h au GBH TouchDown (52,3 % glyphosate) provoque une inhibition de la respiration mitochondriale associée à une perturbation du gradient de proton et une diminution de production d'ATP (Bailey et coll., 2018). Cette inhibition de respiration est accompagnée de la production d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (une espèce réactive de l'oxygène) mais à une dose d'exposition de 9,8 % de glyphosate, concentration plus élevée que la dose d'utilisation en traitement au champ (0,4 à 2,2 %) (Bailey et coll., 2018) mais de l'ordre de la valeur de la CL<sub>50</sub> en exposition aiguë (Negga et coll., 2011).

Le GBH Scout (720 g/kg glyphosate) impacte le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale en inhibant les complexes I et IV et induisant une hyperpolarisation membranaire des mitochondries du système nerveux central dès 0,065 mg/l de glyphosate (7 jours d'exposition) chez *Danio rerio* (le poisson zèbre) (Pereira et coll., 2018). L'inhibition des complexes I et IV provoque la formation de ROS responsables de l'effet neurotoxique (Abramov et coll., 2010). Ainsi, dès 0,065 mg/l (soit une dose inférieure à 0,12 mg/l, concentration génotoxique chez *Oreochromis niloticus* et correspondant à des doses de 0,3 µM), les poissons montrent un changement comportemental et à 1 mg/l ils restent au fond de l'aquarium. Cette modification du comportement des poissons a déjà été observée (Bridi et coll., 2017).

Une diminution de l'activité mitochondriale ainsi que celle de plusieurs glutathion-S-transférases est observée avec une lignée hépatocytaire de poisson zèbre (ZF-L) pour des doses d'exposition du Roundup et glyphosate respectivement de 0,65 et 3,25 mg/l (Lopes et coll., 2018).

En résumé, une toxicité mitochondriale peut être observée avec des doses environnementales (0,065 mg/l étant une valeur inférieure à la plus forte concentration détectée dans les eaux de surface 0,070 mg/l). Il existe un décalage temporel entre les questionnements fondamentaux de la biologie sur les mécanismes d'action de toxicité, en particulier sur la mitotoxicité, et les outils validés par les agences réglementaires qui pourrait expliquer pour partie certaines controverses, en particulier sur le glyphosate.

## Cancérogenèse

Il convient en premier lieu de définir si le composé peut influencer l'initiation et/ou la promotion tumorale (s'il influence les deux, on parle de cancérogène complet). En second lieu, l'analyse de la cancérogénèse ne se limite pas à la génotoxicité (associée à l'initiation) et doit être évaluée sur la base d'effets non génotoxiques (comme c'est le cas avec la prolifération cellulaire d'un clone cancéreux ou étape de promotion tumorale).

Sur le plan mécanistique en lien avec la génotoxicité, une étude originale menée à l'aide de deux lignées cellulaires humaines (BEAS-2B, épithéliale bronchique humaine ; SHSY-5Y neuronale) a mis en évidence une inhibition d'activité de réparation à l'ADN après une exposition (10-100  $\mu\text{M}$ , 24 h) au glyphosate (Alleva et coll., 2016). Un extrait de miel riche en polyphénols (support d'une activité anti-oxydante) restaure l'activité mitochondriale et inhibe la formation de ROS dans les deux lignées cellulaires.

Chez la souris, une étude protéomique réalisée sur le modèle de carcinogénèse cutanée sur une durée de 32 semaines (avec différentes conditions de traitement, agents initiateurs, promoteurs...) montre que le glyphosate n'a pas d'effet initiateur ou complet propre. Par contre, associé à un agent initiateur, il présente un effet promoteur à des doses beaucoup plus faibles que celles préalablement testées (25 mg/kg pc ; deux fois par semaine), d'autant que le profil protéomique modifié par le glyphosate ressemble à celui du 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA), un ester de phorbol modèle utilisé comme agent promoteur (George et coll., 2010). Malgré l'effet génotoxique rapporté précédemment en rapport avec un stress oxydatif, un effet promoteur tumoral pourrait être envisagé et reposerait sur d'autres mécanismes.

### ***Le glyphosate est-il un composé œstrogéno-mimétique ?***

Dès le début des années 2000, Lin et coll. ont étudié différents paramètres cellulaires après traitement par le Roundup et le glyphosate sur la lignée cellulaire humaine MCF-7. Ils ont observé que le glyphosate stimule la prolifération des cellules dès 0,228 mg/l et le Roundup dès 1 mg/l, indépendamment d'un effet de stimulation œstrogénique classique (les concentrations qui entraînent une prolifération maximale étaient respectivement de 2,28 mg/l et 10 mg/l) (Lin et Garry, 2000). La question des propriétés œstrogéniques du glyphosate a donc été posée de façon récurrente dans plusieurs études comme celle de Hokanson et coll., qui par une analyse « *microarrays* » également réalisée avec des MCF-7, montre une modification de l'expression

de gènes sensibles aux œstrogènes après exposition au glyphosate 15 mg/l<sup>94</sup> pendant 18 h en présence ou non d'estradiol ( $3 \times 10^{-10}$  M) (Hokanson et coll., 2007). Ces résultats sont à mettre en parallèle avec ceux de Thongprakaisang et coll. en 2013 qui montrent que le glyphosate, dès 0,169 ng/l ( $10^{-12}$  M), induit un effet prolifératif dans la lignée mammaire humaine T47D (lignée cellulaire de cancer du sein hormonodépendant) probablement en lien avec une stimulation de la voie des œstrogènes (car non observée dans la lignée ER-négatif MDA-MB-231, une lignée cellulaire de cancer du sein non hormono-dépendant) (Thongprakaisang et coll., 2013). Une étude récente rapporte un effet sur des marqueurs de la prolifération du glyphosate dès  $10^{-11}$  M (1,69 ng/l) testé sur des lignées de cholangiocarcinomes exprimant ou non le récepteur aux œstrogènes ER $\alpha$ . L'effet prolifératif (augmentation des cellules en phase S) est observé sur des cellules exprimant ER $\alpha$  avec une prolifération cellulaire bloquée par un agent antagoniste de ER $\alpha$  (Sritana et coll., 2018). Des cellules MDA-MB-468 (ER-négatif) et MCF-7 (ER-positive) ont été exposées à 186 mg/l (1,1 mM) de glyphosate sous forme de Roundup Original ou à 1 110 mg/l (10 mM) d'AMPA pendant 48 h afin d'analyser le transcriptome (Stur et coll., 2019). Le Roundup et l'AMPA induisent une dérégulation de gènes œstrogéno-dépendants et de onze réseaux de régulation, parmi lesquels le cycle cellulaire et la réponse aux dommages de l'ADN pour les cellules triple négatives.

Compte tenu de l'importance de la dose en toxicologie, il peut être intéressant de comparer les résultats obtenus à des doses beaucoup plus élevées : le glyphosate, mais pas les composants utilisés pour les GBH (certains connus comme le POEA et d'autres inconnus en raison du secret de fabrication des formulations), peut activer ER $\alpha$  à forte concentration (Mesnage et coll., 2017). Li et coll. ont testé l'influence du glyphosate à des concentrations entre 15 et 50 mM (2 535 et 8 450 mg/l) sur la croissance de 8 lignées cellulaires et identifient des inhibitions de croissance pour certaines dès 15 mM, phénomène non observé sur deux lignées épithéliales prostatiques normales mais immortalisées (Li et coll., 2013). Ceci est aussi observé avec l'AMPA, avec un même intervalle de concentrations (Parajuli et coll., 2015). Des processus apoptotiques sont aussi stimulés par l'AMPA dès 50 mM (5 552 mg/l) (Li et coll., 2013). Ces études ont été conduites avec des modèles cellulaires différents et suggèrent que le glyphosate activerait le récepteur aux œstrogènes, une voie d'activation associée à la prolifération cellulaire. De plus l'« effet dose » semble jouer ici un rôle prédominant avec une activation de ER $\alpha$  observée à forte dose (Mesnage et coll., 2017).

Par ailleurs, au-delà des effets passant par les récepteurs aux œstrogènes, plusieurs études rapportent un effet inhibiteur sur l'aromatase du glyphosate : le Roundup Bioforce a été testé sur les lignées de cellules embryonnaires 293 et placentaires (choriocarcinome) JEG-3 pour évaluer une potentielle activité hormonale (Benachour et coll., 2007). Le Roundup Bioforce à la dilution de 0,01 % (égale à 35,5 mg/l ou 210 µM de glyphosate) pendant 24 h exerce un effet inhibiteur de l'activité aromatase, enzyme chargée de la transformation de certains précurseurs androgéniques en œstrogènes. Un effet inhibiteur de l'aromatase, a aussi été rapporté sur des cellules JEG3 *in vitro* suite à une exposition à deux GBH différents (Glyphos et Médallon) et aux ingrédients : glyphosate et surfactants. Les concentrations utilisées sont 1,2 à 3 fois inférieures aux NOEC (*No Observed Effect Concentration*, dose sans effet) du Glyphos (75 mg/l) et Médallon (500 mg/l). Le glyphosate (NOEC = 3 100 mg/l) seul n'a pas d'effet alors que les co-formulants et les GBH inhibent l'aromatase de 25 à 40 %, ce qui est en faveur d'un effet des coformulants et non du glyphosate (Defarge et coll., 2016). L'effet inhibiteur (IC<sub>50</sub>) du glyphosate sur l'aromatase est observé sur des cellules JEG3 et sur une préparation microsomale *in vitro* pour une concentration de Roundup de 0,04 % (équivalent à 144 mg/l de glyphosate) et 0,6 % (équivalent à 2,16 g/l de glyphosate), respectivement. Le Roundup testé sur les préparations microsomales est 4 fois plus actif que le principe actif (à concentration équivalente en glyphosate, probablement du fait de la présence de coformulants) (Richard et coll., 2005).

Ces résultats sont intéressants car ils suggèrent des effets pro-œstrogéniques via les récepteurs aux œstrogènes constatés à de fortes mais aussi à de faibles doses. L'inhibition de l'aromatase ajoute un élément complexe à l'interprétation des données qui peut être éclairé par les informations qui suivent.

### ***Qu'en est-il du mécanisme d'action biochimique et d'une liaison directe avec ER $\alpha$ ?***

La recherche d'une interaction entre le glyphosate et les voies de régulation des hormones sexuelles a été évalué par l'EPA sur la base de la série de tests EDSP niveau I (*Endocrine Disruptor Screening Program*) aboutissant à un résultat négatif pour les récepteurs aux œstrogènes, androgènes et thyroïdiens (EPA, 2015). Une étude récente rend compte du même résultat en excluant une liaison du glyphosate au récepteur ER $\alpha$ . Elle suggère en revanche une activation de ce récepteur par des mécanismes non génomiques (Mesnage et coll., 2017). Dans cette étude, menée à l'aide de systèmes rapporteurs et d'outils à grande échelle (omiques), les auteurs montrent que le glyphosate n'est probablement pas un ligand efficace du récepteur aux œstrogènes  $\alpha$

mais favorise bien néanmoins une voie de transactivation non-œstrogénique (protéine kinase A). Plus précisément, le glyphosate stimule la prolifération des MCF-7 et T47D à 59  $\mu\text{M}$  ( $> 10 \text{ mg/l}$ ).

Si on tient compte de l'ensemble de ces résultats, le glyphosate et les GBH pourraient activer la voie de signalisation du  $\text{ER}\alpha$ , par le biais de mécanismes n'impliquant pas une liaison au récepteur (œstrogéno-indépendant,  $\text{ER}\alpha$ -dépendant), ce qui serait cohérent avec l'inhibition de l'aromatase qui est aussi observée. Ces effets sont aussi cohérents avec d'éventuelles propriétés de promoteur tumoral.

### **Le glyphosate est-il un perturbateur endocrinien ?**

Si le potentiel cancérigène du glyphosate reste une question ouverte, les quelques résultats récents en épidémiologie et génotoxicité ne permettent pas de conclure. Le fait de centrer la polémique sur un potentiel effet cancérigène pourrait occulter d'autres mécanismes possibles de toxicité, en particulier un effet de perturbation endocrinienne.

Les perturbateurs endocriniens (PE) sont des substances capables d'interférer avec le système hormonal. Depuis 2017 (règlements UE 2017/2100 et UE 2018/605), une substance phytopharmaceutique est identifiée comme PE si : *i*) la substance ou un mélange de substances a un mode d'action qui altère les fonctions du système endocrinien ; *ii*) elle produit un effet indésirable chez un organisme intact ou ses descendants ; et *iii*) l'effet indésirable est une conséquence de ce mode d'action.

Bien que les données de la littérature soient contradictoires, l'Efsa a publié en 2017 (Efsa, 2017) que le glyphosate n'était probablement pas un PE, laissant cependant le débat ouvert. Cette analyse reposait pour partie sur les résultats négatifs suivants :

- le test *EDSP niveau 1* de l'EPA aboutissait à un résultat négatif (EPA, 2015) ;
- pas d'effet sur la stéroïdogénèse sur la lignée MA-10 de souris (Forgacs et coll., 2012) ;
- pas d'effet sur la synthèse de vitellogénine (Xie et coll., 2005) ;
- pas d'effet sur la régulation de PXR dans les cellules COS-7 (Kojima et coll., 2011) ni sur le récepteur Ah dans les cellules Hepa1c7 (Takeuchi et coll., 2008).

Ces différents tests ne permettent pas de déterminer si d'autres voies de signalisation hormonale sont perturbées. Ainsi, nous avons décrit plus haut

que le glyphosate semble présenter des propriétés d'activation œstrogénique sans liaison directe au récepteur ER $\alpha$ . Ainsi, la littérature récente suggère un mode d'action PE qui pourrait agir au niveau des fonctions développementales ou de reproduction.

### ***Perturbation du développement en lien avec une dérégulation hormonale***

Le glyphosate et les GBH affectent différentes fonctions de l'organisme : métabolisme, fonctions reproductrices, système nerveux... En 2010, un effet du GBH (Roundup Classic, contenant 48 % de sel de glyphosate) est rapporté sur le développement de la grenouille et du poulet (Paganelli et coll., 2010) ; cet effet semble être lié à une perturbation du système rétinien ; en effet, le GBH entraîne une altération du développement de la crête neurale, qui peut être médiée par une augmentation de l'acide rétinien endogène puisque des antagonistes du récepteur de l'acide *trans*-rétinien sont capables de réverser l'effet tératogène du glyphosate. D'autres expériences rapportent une embryotoxicité chez des rates exposées au GBH pendant la grossesse (Dallegrave et coll., 2003 ; Dallegrave et coll., 2007).

### ***Perturbation de la fonction de reproduction***

Beaucoup d'études ont testé un potentiel effet du glyphosate ou plus fréquemment des GBH sur la reproduction, principalement chez les rongeurs.

- ***Effet du glyphosate et des GBH chez les mâles***

Une altération des spermatozoïdes est retrouvée dans plusieurs études utilisant différents modèles cellulaires (rats, humains) et *in vivo* (souris, rats).

Une récente méta-analyse réalisée à l'aide d'études sur un ensemble de rongeurs, conclut à une association entre l'exposition au glyphosate et la diminution de la concentration de spermatozoïdes ( $- 2,774 \times 10^6$ /spermatozoïdes/g/testicule ; IC 95 % [- 0,969 à - 4,579]) (Cai et coll., 2017). Celle-ci est complétée par des études récentes avec du glyphosate ou différentes formulations de GBH et les trois espèces pré-décrites ; ainsi, un dysfonctionnement des fonctions reproductives est observé chez des rats exposés par voie orale pendant 12 semaines au Roundup contenant du glyphosate sous la forme de sel de potassium à des doses de 3,6, 50,4 et 248,4 mg/kg pc/j (Owagboriaye et coll., 2017). Une diminution du taux de testostérone, de l'hormone lutéinisante (LH), de l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et une augmentation du taux de prolactine sont rapportées ainsi qu'une réduction de la concentration de spermatozoïdes et de leur mobilité, et une augmentation du pourcentage d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes. Ces résultats sont

cohérents avec ceux d'une autre étude plus ancienne dans laquelle l'exposition de rates gravides au GBH à des doses de 50, 150 ou 450 mg/kg de glyphosate pendant la gestation (21-23 jours) et la lactation (21 jours) n'induit pas de toxicité maternelle. En revanche, un effet adverse est observé sur la fonction de reproduction de la descendance mâle : diminution du nombre de spermatozoïdes, augmentation du nombre de spermatozoïdes anormaux et diminution du taux de testostérone sérique (Dallegrave et coll., 2007). Certains de ces effets pourraient être liés à une modification de la fonction non pas des spermatozoïdes, mais de cellules importantes pour leur développement : ainsi, une exposition aiguë au Roundup Original (360 g/l) pendant 30 min induit un stress oxydant et active des réponses multiples dont une mortalité de cellules de Sertoli dans des testicules de rats prépubères (De Liz Oliveira Cavalli et coll., 2013). Cet effet est retrouvé avec le glyphosate aux mêmes conditions d'exposition et contrecarré par un prétraitement avec des antioxydants. Plus récemment, des souris gestantes ont été exposées au Roundup 3 Plus ou au glyphosate dans l'eau de boisson aux doses de 0,5 (correspondant à la DJA), 5 et 50 mg/kg/j du jour embryonnaire 10,5 à 20 jours post-partum. Les résultats montrent chez la descendance mâle (sacrifiés à 5, 20, 35 jours et 8 mois d'âge) que le nombre de spermatozoïdes diminue fortement aux doses de 0,5 et 5 mg/kg/j (GBH et glyphosate respectivement). Les spermatogonies indifférenciées diminuent en nombre de 60 % à la dose de 5 mg/kg/j dans le groupe glyphosate (Pham et coll., 2019). Par ailleurs, des souris exposées au Roundup (360 g/l de glyphosate et 18 % (masse/volume) de surfactant POEA) par gavage (concentrations de glyphosate de 60, 180 et 540 mg/kg pc/j) présentent une diminution de la mobilité et du nombre de spermatozoïdes ainsi qu'une augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes. Une apoptose excessive des cellules germinales est accompagnée d'une surexpression de XAF1<sup>95</sup> aux doses élevées de 180 et 540 mg/kg (Jiang et coll., 2018). Enfin, la mobilité et la fragmentation d'ADN de spermatozoïdes humains ont été testés *in vitro* suite à une exposition de 0,36 mg/l de glyphosate (Anifandis et coll., 2018a). La motilité est réduite après une heure d'incubation mais sans effet sur la fragmentation de l'ADN, un effet dont le mécanisme pourrait être dépendant d'un dysfonctionnement mitochondrial (Anifandis et coll., 2018b).

Une altération de la glande mammaire (compatible avec une altération des fonctions œstrogéniques) est également observée dans deux études : ainsi, des rats mâles exposés à la naissance au Roundup FULL II à 2 mg/kg de glyphosate par voie sous-cutanée tous les deux jours entre le premier et le septième jour après la naissance (*post-natal day* 1 à 7 ; PND1 à PND7), et

sacrifiés au PND21 ou PND60, présentent un développement de la glande mammaire avec une augmentation du stroma et des bourgeons terminaux à l'âge de 21 jours ainsi qu'une infiltration de mastocytes à 60 jours (féminisation) (Altamirano et coll., 2018). Lors d'une exposition de rates gravides à un GBH (3,5 ou 350 mg/kg pc/j) du 9<sup>e</sup> jour de gestation jusqu'au sevrage, une atrophie du développement de la glande mammaire est notée chez les descendants mâles à PND60 (Gomez et coll., 2019). Ces effets sont certes différents, mais les protocoles d'exposition sont très différents tout comme l'intervention des systèmes hormonaux en fonction des différents stades. Ainsi, la perturbation du processus de masculinisation est aussi observée suite à une exposition pendant la grossesse au GBH, chez des rats nouveau-nés qui présentent à l'âge adulte une hypersécrétion d'androgènes et une augmentation d'activité des gonades (Romano et coll., 2012).

- **Effet du GBH chez les femelles**

L'exposition de rates au GBH (Roundup FULL II ; 2 mg/kg pc/j de glyphosate) par voie sous-cutanée en période post-natale (PND1 à 7) augmente la prolifération cellulaire de l'utérus à PND8 mais non à PND21 (Guerrero Schimpf et coll., 2017). La voie ER $\alpha$  est ainsi activée à PND8 dans le compartiment stromal et réprimée à PND21 dans le compartiment luminal. Par ailleurs, quand les rates sont ovariectomisées à PND21 et traitées avec le 17 $\beta$ -œstradiol jusqu'à PND60, une hyperplasie de l'épithélium utérin est observée chez les rates exposées au GBH pendant la première semaine après la naissance suggérant qu'une exposition précoce au GBH augmente la sensibilité de l'utérus à l'œstradiol (Guerrero Schimpf et coll., 2018). Ces résultats sont compatibles avec l'hypothèse mécanistique d'une stimulation œstrogénique (bien qu'indépendante d'une liaison au ER $\alpha$ , voir plus haut).

Parmi les mécanismes qui pourraient être proposés pour expliquer ces dysfonctionnements, une modification de la stéroïdogenèse (ou des hormones la régulant) peut être suspectée du fait de données expérimentales rapportées par plusieurs études.

Comme décrite précédemment, une diminution du taux de testostérone, de la LH, de la FSH et une augmentation du taux de prolactine (associées à une réduction de la concentration de spermatozoïdes et de leur mobilité) sont constatées chez des rats mâles exposés par voie orale pendant 12 semaines au Roundup (Owagboriaye et coll., 2017). Plus récemment, une étude à long terme montre à la fois des effets des GBH et du glyphosate. Dans cette étude, des rates sont exposées soit à 1,75 mg/kg pc/j de glyphosate (pur à > 99,5 %) ou à la même dose de matière active sous la forme de Roundup Bioflow (41,5 % glyphosate sel d'isopropylamine) dans l'eau de

boisson à partir du 6<sup>e</sup> jour de gestation jusqu'à PND120 (Manservisi et coll., 2019). Cette exposition provoque une altération du système endocrinien chez la descendance, accompagnée : *i*) d'une augmentation de la distance ano-génital à PND4 chez les mâles et les femelles traités au Roundup et chez les mâles traités au glyphosate ; *ii*) d'un retard de l'âge du premier œstrus et une augmentation de la concentration de testostérone chez les femelles (qui est logique avec les effets d'inhibition de l'aromatase précédemment décrits) ; *iii*) d'une augmentation de la concentration plasmatique de TSH chez les mâles traités au glyphosate ainsi qu'une diminution de dihydrotestostérone et une augmentation de BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) chez les mâles traités au Roundup. Dans l'étude de Pham et coll., l'exposition de souris gestantes au Roundup 3 Plus ou au glyphosate dans l'eau de boisson aux doses de 0,5 (correspondant à la DJA), 5 et 50 mg/kg/j à partir du jour embryonnaire 10,5 jusqu'aux 20 jours après la mise bas, montre chez la descendance mâle (sacrifiés à 5, 20, 35 jours et 8 mois d'âge) que l'exposition au glyphosate mais non au GBH, affecte d'une part le poids (diminution) des testicules et la morphologie de l'épithélium des tubes séminifères à 20 jours et d'autre part diminue la concentration sérique de testostérone à 35 jours. Chez les souris de 8 mois, une diminution du niveau de testostérone est observée dans le groupe GBH (Pham et coll., 2019). Enfin, l'exposition de la lignée MA-10 (cellules de Leydig de souris) au Roundup conduit à une inhibition de la stéroïdogénèse à une concentration non cytotoxique alors que le glyphosate n'a pas d'effet. Ce résultat illustre de nouveau la plus forte toxicité des formulations et indique que des agents ont une activité PE (Walsh et coll., 2000).

- ***Qu'en est-il d'un effet du glyphosate ou des GBH sur la fonction de reproduction ?***

Des GBH ont été utilisés dans la majorité de ces études d'où la question sur la contribution du glyphosate aux perturbations constatées. En outre, les formulations peuvent présenter des toxicités variables sans rapport avec la concentration en glyphosate comme il a été rapporté sur des systèmes invertébrés (Niemeyer et coll., 2018). Est-ce un effet spécifique de certains coformulants, un effet mélange entre les composés dont le glyphosate ? Ceci est à rapprocher de publications plus anciennes indiquant que le mode d'action PE pourrait ne pas être relié au seul principe actif mais plutôt aux coformulants (Mesnage et coll., 2013 ; Defarge et coll., 2016). En fait, plusieurs études rapportent à la fois des effets du glyphosate et des GBH. L'étude de Manservisi et coll. dans laquelle des rates sont exposées soit à 1,75 mg/kg pc/j de glyphosate (pur à > 99,5 %) soit la formulation Roundup Bioflow (41,5 % glyphosate) dans l'eau de boisson à partir du 6<sup>e</sup> jour de gestation jusqu'à

120 jours après la mise bas, montre que chaque traitement altère le système endocrinien (avec certes des différences mais aussi des points communs comme une modification de la distance ano-génital chez les mâles) (Manservigi et coll., 2019).

De même, l'étude de Pham et coll. montre que l'exposition de souris gestantes au Roundup 3 Plus ou au glyphosate dans l'eau de boisson aux doses de 0,5 (correspondant à la DJA), 5 et 50 mg/kg/j de E10,5 à 20 jours post-partum, montre une diminution du nombre de spermatozoïdes (Pham et coll., 2019).

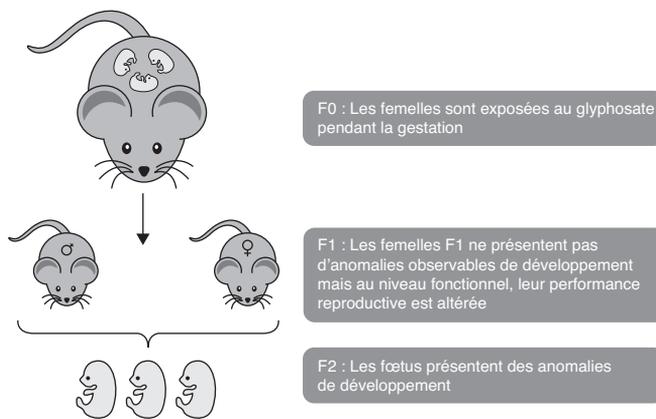
En résumé, un mode d'action PE est observé suite à une exposition aux GBH mais aussi au glyphosate à des doses faibles, c'est-à-dire inférieures à 50 mg/kg/j (valeur correspondant à la NOAEL chez le rat). Des effets phénotypiques de PE par le GBH et le glyphosate sont fortement suspectés à la suite des nombreuses études menées sur la fonction androgénique et œstrogénique mais avec des effets complexes, qui pourraient s'expliquer par exemple pour les œstrogènes à la fois par leur action sur l'aromatase (anti-œstrogénique) et par l'hypersensibilisation à l'action de l'œstradiol (pro-œstrogénique).

### Effets intergénérationnels et modifications épigénétiques

Les études épigénétiques permettent de déterminer les mécanismes d'action modifiant de manière réversible, transmissible et adaptative, l'expression des gènes sans en changer la séquence nucléotidique (c'est-à-dire celle de l'ADN). Ce type de modification par exemple au niveau d'un promoteur de gènes, peut conduire à son extinction ou à l'inverse à son expression. Bien que grandement débattue, la possibilité d'une transmission au travers des générations de ce type de modifications, est de plus en plus acceptée. Au niveau expérimental, il devient de plus en plus fréquent de trouver des publications explorant l'effet d'un contaminant utilisé pour traiter la génération 0 (et seulement celle-ci) au stade gestationnel, au-delà de la 3<sup>e</sup> génération, qui n'a donc jamais vu le contaminant, contrairement aux générations F1 (foetus exposés) ou F2 (gamètes du foetus exposés). C'est dans ce contexte que les effets du glyphosate et des GBH commencent à être explorés.

Une étude de 2018 montre que des rates (F0) exposées par voie orale à 2 ou 200 mg/kg pc/j de glyphosate sous forme de GBH (Magnum Super II contenant 66,2 % de glyphosate sel de potassium) entre le 9<sup>e</sup> jour de gestation et le jour du sevrage (21 jours après la naissance) ne présentent pas d'effet toxique aux deux doses testées sur les caractéristiques reproductives (durée de gestation, taille de la portée, poids de naissance...). L'exposition à

2 mg/kg pc/j de glyphosate de la mère (F0) induit une anomalie de la fonction reproductive (diminutions des sites d'implantation, fausses couches) pour la génération F1. Dans la génération F2, sont observés des retards de croissance fœtale et des anomalies du développement (malformations fœtales) (Milesi et coll., 2018). Cette héritabilité suggère un effet intergénérationnel qui pourrait s'expliquer par l'exposition au GBH *in utero* pour la génération F1, ou de leurs cellules germinales (pour la génération F2) (figure 19.3). Cependant, il aurait été intéressant dans cette étude d'examiner la génération F3 afin de potentiellement identifier des effets en absence d'exposition au GBH (des effets dits « transgénérationnels »).



**Figure 19.3 : Effets intergénérationnels d'un polluant environnemental : exemple du glyphosate**

L'effet intergénérationnel laisse supposer une transmission d'information épigénétique (c'est-à-dire n'impliquant pas d'altération de la séquence de l'ADN) liée à l'exposition au GBH. Les processus impliqués dans la régulation épigénétique incluent les modifications post-traductionnelles des histones, de la structure de la chromatine, la méthylation de l'ADN, les ARN non codants et la méthylation des ARN. Trois études récentes viennent étayer certains de ces mécanismes.

Dans l'objectif de mieux comprendre les mécanismes biologiques sous-tendant ces résultats, les mêmes auteurs ont exposé des rates gravides (F0) à 350 mg/kg pc/j de glyphosate (sous la forme de GBH Magnum Super II) par voie orale pendant la gestation et la lactation. Leurs descendants femelles (F1) ont été accouplées et sacrifiées au 5<sup>e</sup> jour de gestation (stade préimplantatoire). Les utérus sont collectés et il est observé une diminution de la méthylation du promoteur du ER $\alpha$  ainsi que des modifications post-traductionnelles des histones en parallèle d'une augmentation du niveau de

messager de ER $\alpha$  (Lorenz et coll., 2019). Cette diminution de la méthylation du promoteur du ER $\alpha$  pourrait conduire à une augmentation d'expression du récepteur ce qui expliquerait l'augmentation de sensibilité vis-à-vis des œstrogènes, phénomène décrit ci-dessus bien que dans un autre contexte.

Des rates (F0) ont été exposées au glyphosate entre les jours 8 et 14 de gestation à une dose de 25 mg/kg pc/j par voie intra-péritonéale. La F1 (exposition fœtale) produit une F2 (exposition des cellules germinales) laquelle engendre une génération F3 (aucune exposition au glyphosate). Les différentes générations sont euthanasiées à l'âge d'un an et l'analyse des événements épigénétiques des spermatozoïdes est conduite. Les profils de méthylation de l'ADN (*Differentially Methylated Regions* ; DMR) sont différents pour les F1, F2 et F3 en comparaison du contrôle F0. La majorité des DMR n'est pas associée aux gènes, mais aux régions intergéniques. Parmi les gènes associés aux DMR, ils sont majoritairement impliqués dans la signalisation, le métabolisme, les récepteurs et les cytokines (Kubsad et coll., 2019 ; Ben Maamar et coll., 2020). Il n'est pas observé d'augmentation de fréquence de pathologies pour les F0 et F1 alors que cette fréquence augmente pour F2 et F3. Ce résultat suggère une héritabilité épigénétique transgénérationnelle.

Le glyphosate induit une diminution globale de la méthylation de l'ADN pour les lymphocytes périphériques exposés *in vitro* à 42,3 mg/l (0,25 mM) de glyphosate (Kwiatkowska et coll., 2017). Aux concentrations de 0,25 et 0,5 mM, le glyphosate augmente la méthylation du promoteur de p53 sans changement pour le promoteur de p16.

En résumé, un mode d'action épigénétique du glyphosate et des GBH est observé dans plusieurs études dont une pour des valeurs d'exposition inférieures à la NOAEL sur une dose d'exposition courte.

## Effets neurotoxiques

Il a été rapporté qu'une exposition aux GBH pouvait affecter le développement et la physiologie de vertébrés (Dallegrave et coll., 2007 ; Paganelli et coll., 2010 ; Zhang et coll., 2017). Parmi les perturbations induites par le glyphosate, des altérations de l'homéostasie du système nerveux central (SNC) et du comportement, sont discutées.

Des études récentes montrent ainsi que des GBH induisent une altération de concentration de plusieurs neurotransmetteurs comme la dopamine, la norépinephrine, la sérotonine ou le glutamate dans différentes régions cérébrales telles que l'hippocampe, la substance noire et le cortex préfrontal chez des rongeurs (Hernandez-Plata et coll., 2015 ; Cattani et coll., 2017 ;

Gallegos et coll., 2018 ; Yu et coll., 2018). Cependant les doses d'exposition sont souvent élevées (> 50 mg/kg/j) et les effets du glyphosate *versus* les GBH, sont rarement comparés dans la même étude. Ainsi, Cattani et coll. ont montré un effet de stress oxydant (déplétion du pool de glutathion réduit (GSH), diminution de l'expression des GST et SOD dans les cellules de l'hippocampe) affectant la neurotransmission cholinergique et glutamatergique chez des rats (PND15 ou PND60) dont les mères ont été exposées à 1 % GBH dans l'eau de boisson (correspondant à 0,36 % de glyphosate soit 3 600 mg/l ; une souris de 35 g boit environ 5 ml par jour donc elle est exposée à une dose de 18 mg/j ou 514 mg/kg/j) à partir du 5<sup>e</sup> jour de gestation jusqu'au jour 15 ou 60 après la mise bas (donc F1 exposés continuellement pendant la gestation et la durée de vie via lactation et boisson) (Cattani et coll., 2017). Les effets neurotoxiques du GBH sont accompagnés d'un état dépressif et d'une diminution de mobilité. Ceci permet de noter que ces diminutions de concentrations des neurotransmetteurs pourraient expliquer les déficits locomoteurs ou un syndrome d'anxiété-dépression également observés dans d'autres études récentes, chez des rongeurs exposés au glyphosate ou au GBH (Bridges, 2016 ; Ait Bali et coll., 2017 ; Cattani et coll., 2017 ; Ait Bali et coll., 2018 ; Gallegos et coll., 2018).

Par ailleurs, d'autres modèles sont désormais utilisés dans ce domaine de la neurotoxicologie des GBH et du glyphosate. Ainsi, Pereira et coll. ont montré chez le poisson zèbre qu'une altération de la chaîne respiratoire mitochondriale (complexes I et IV) de certains neurones était induite par une exposition au glyphosate ou GBH (doses 0,065, 1,0 et 10,0 mg/l) (Pereira et coll., 2018). Il est largement accepté qu'un stress oxydatif et/ou une perturbation de la physiologie mitochondriale participent au développement de pathologies neurodégénératives (Rugarli et Langer, 2012). De manière cohérente avec ce constat, un effet neurocomportemental est observé chez le poisson zèbre après 7 jours à la plus faible dose d'exposition de GBH (0,065 mg/l) correspondant à une activité exploratoire seulement en surface de l'aquarium en comparaison du groupe contrôle (Pereira et coll., 2018). Par ailleurs, chez des larves (après 3 jours post-fertilisation) et des adultes exposés à 0,01, 0,065 et 0,5 mg/l de glyphosate ou Roundup pendant 96 h, il est observé une diminution de la locomotion chez les adultes (exposés à 0,5 mg/l de glyphosate et 0,065 ou 0,5 mg/l de Roundup), une altération de la mémoire chez les adultes (exposés à 0,5 mg/l de Roundup) et une diminution de la distance interoculaire pour les larves (exposées à 0,5 mg/l de glyphosate). De plus, l'exposition au glyphosate et Roundup réduit le comportement agressif des adultes (Bridi et coll., 2017).

Logiquement, ces études se sont concentrées sur les effets du glyphosate ou des GBH sur le développement du cerveau de la descendance suite à une exposition périnatale en raison de la neuroplasticité du SNC au cours du développement. Néanmoins, récemment, une étude a considéré l'exposition de rates au glyphosate ou Roundup 3 Plus à faible dose de glyphosate (5 mg/kg pc/j soit le 1/10<sup>e</sup> de la NOAEL) du 10<sup>e</sup> jour de gestation jusqu'au 21<sup>e</sup> jour post-partum (PND21) (Dechartres et coll., 2019). Cette faible dose d'exposition affecte le comportement de léchage de la mère ainsi que la neurogenèse en période post-partum illustrée par une augmentation de la population de neurones immatures post-mitotiques dans le gyrus denté dorsal. Bien qu'un effet neurotoxique direct n'ait pas été démontré, il est intéressant de noter que le glyphosate ou la formulation modifient le rapport *Bacteroidetes* et *Firmicutes* du microbiote intestinal de la mère.

À propos des mécanismes inducteurs d'effets neurotoxiques, la propriété chélatrice de métaux du glyphosate a très peu été étudiée et pourrait contribuer à la neurotoxicité observée avec différents modèles expérimentaux (Mertens et coll., 2018).

Ces effets neurotoxiques plus marqués avec le GBH en comparaison du glyphosate, sont associés à une dysbiose du microbiote intestinal. Le lien entre dysbiose du microbiote intestinal (avec ces bactéries exprimant l'EPSPS) et de nombreuses pathologies incluant le cancer et les maladies psychiatriques (Galland, 2014 ; Kosumi et coll., 2018) devraient inciter à tester plus en détail l'effet du glyphosate sur les populations microbiennes.

### **Le glyphosate induit-il une dysbiose du microbiote intestinal ?**

Le glyphosate est utilisé chez les plantes pour son activité inhibitrice de la voie shikimate, voie de biosynthèse qui est retrouvée chez de nombreuses bactéries avec en conséquence un effet potentiel sur les microbiotes animaux ou environnementaux. Nous limiterons l'analyse aux microbiotes symbiotiques des animaux et en particulier le microbiote intestinal.

Un essai de toxicité *in vitro* du glyphosate sur le microbiote des poules avait pour objectif d'évaluer son impact sur les bactéries qui peuvent protéger de bactéries pathogènes (Shehata et coll., 2013). Les bactéries pathogènes comme *Salmonella enteritidis*, *S. gallinarum*, *S. typhimurium*, *Clostridium perfringens* et *C. botulinum* sont résistantes au glyphosate. En revanche, les bactéries protectrices comme *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Bacillus badius*, *Bifidobacterium adolescentis* et *Lactobacillus spp.* sont modérément ou hautement sensibles au glyphosate. On peut donc poser l'hypothèse que le

glyphosate en perturbant l'équilibre du microbiote prédispose à des pathologies en lien avec des dysbioses bactériennes.

Lors d'une fermentation *in vitro* du microbiote du rumen de bovin, il est observé l'induction d'une dysbiose par le glyphosate laquelle favorise le développement de *Clostridium botulinum* (bactérie pathogène, résistante au glyphosate, voir ci-dessus) et la production de la neurotoxine botulinique dans le rumen (Ackermann et coll., 2015).

Sur les modèles rongeurs, l'exposition au Roundup Grand Travaux Plus (450 g/l glyphosate) présent dans l'eau de boisson aux doses de 50 ng/l (0,1 ppb), 100 mg/l (400 ppm) ou 2 250 mg/l (5 000 ppm) induit une dysbiose du microbiote intestinal du rat avec une augmentation de la famille *Bacteroidetes* et une diminution de la famille *Lactobacillaceae* (Lozano et coll., 2018). L'exposition des rats par voie orale à 1,75 mg/kg/j de glyphosate à partir du 6<sup>e</sup> jour de gestation jusqu'à 13 semaines n'altère pas la survie des animaux, le poids ou le comportement alimentaire (Panzacchi et coll., 2018). Les mêmes résultats sont obtenus pour une dose équivalente de glyphosate sous forme de Roundup Bioflow (contenant 41,5 % de glyphosate sel d'isopropylamine), ce qui correspondait, lors de la publication de l'étude, à la dose chronique de référence (*Chronic Reference Dose*) établie par l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis. En revanche, pour le même schéma expérimental, si des rates (F0) sont exposées à partir du 6<sup>e</sup> jour de gestation jusqu'au 125<sup>e</sup> jour après les naissances (PND125), les rats de la génération F1 présentent à PND31 (correspondant à la pré-puberté chez les humains) une modification importante de la composition du microbiote intestinal : le rapport *Bacteroidetes/Firmicutes* est augmenté avec le glyphosate et le Roundup Bioflow (Mao et coll., 2018). Cette augmentation de la proportion de *Bacteroidetes* est cohérente avec l'étude de Lozano et coll. Chez la souris, deux études montrent un effet perturbateur du Roundup sur le microbiote intestinal associé à un syndrome d'anxiété ou de dépression après exposition à des doses élevées (250 et 500 mg/kg pc/j) (Ait Bali et coll., 2017 ; Ait Bali et coll., 2018).

Ces effets rapportés sur des modèles animaux, mis en place pour étudier des mécanismes en rapport avec la santé humaine, ne doivent pas faire oublier la toxicité du glyphosate sur les écosystèmes. En effet, il a été quelques fois mentionné un effet toxique sur les insectes et tout particulièrement les abeilles. Des abeilles ont été exposées par voie orale (sirop) au glyphosate à 5 et 10 mg/l (Motta et coll., 2018), des doses qui correspondent à une exposition environnementale (Herbert et coll., 2014). L'exposition au glyphosate pendant la colonisation précoce de l'intestin augmente la mortalité des abeilles adultes lorsqu'elles sont exposées à des pathogènes opportunistes

(Motta et coll., 2018). Une exposition à une dose sub-létale de Roundup (Roundup Original-glyphosate/nourriture artificielle dans un rapport 2,16 mg/g) chez les nurses produit des modifications ultrastructurales des glandes hypopharyngées, une dégénérescence du réticulum endoplasmique et des changements structuraux des mitochondries de ces cellules. Cet impact sur l'histologie des glandes hypopharyngées a pour conséquence une altération de production de gelée royale avec un effet sur le développement et la survie des colonies d'abeilles (Faita et coll., 2018).

Enfin, les GBH pourraient ainsi favoriser la génération d'une co-résistance de bactéries coliformes au glyphosate et aux antibiotiques, une hypothèse récemment discutée (Kurenbach et coll., 2015 ; van Bruggen et coll., 2018). Cette hypothèse pose également la question d'un effet de sélection de plantes adventices résistantes au glyphosate mais aussi de modifications des microbiotes symbiotiques des plantes et animaux.

## Conclusion

Le glyphosate est l'herbicide le plus utilisé dans le monde et le plus employé en France. Du fait de ses modalités et circonstances d'application, l'absorption cutanée est considérée comme la principale voie d'exposition chez les utilisateurs professionnels ou non. Par ailleurs, la contamination des denrées alimentaires peut entraîner l'exposition des consommateurs par voie orale. Le glyphosate est très peu métabolisé dans l'organisme (moins de 1 %) et il est éliminé dans les urines sous forme inchangée. Sans potentiel d'accumulation notoire, sa demi-vie chez l'être humain est estimée entre 5 et 10 h.

La quantification du glyphosate dans les urines représente la méthode la plus appropriée pour estimer et suivre au cours du temps l'exposition des populations. Néanmoins, cela exige des méthodes analytiques rigoureuses (techniques d'extraction, de séparation et de détection). Les concentrations urinaires fréquemment retrouvées dans les populations exposées professionnellement ou en population générale sont de l'ordre du  $\mu\text{g/l}$ . Ces valeurs sont inférieures d'un facteur 100 à 1 000 à celles attendues pour une exposition chronique correspondant à la DJA actuellement déterminée par l'Efsa, soit 0,5 mg/kg/j (Efsa, 2015a). Pour autant, cette valeur de référence, basée sur des données expérimentales chez l'animal de laboratoire, ne permet pas d'exclure tout risque chez l'être humain, en particulier lors d'expositions répétées et sur le long terme. C'est ainsi que de nombreuses études épidémiologiques se sont intéressées aux conséquences sanitaires des expositions professionnelles (et dans une moindre mesure dans des circonstances

d'exposition résidentielles) à des préparations à base de glyphosate. Ces études se sont intéressées à la survenue de pathologies tumorales et non tumorales.

En 2013, l'expertise collective Inserm avait conclu que l'exposition au glyphosate était associée à un excès de risque de lymphomes non hodgkiniens (LNH) avec une présomption faible d'un lien s'agissant des agriculteurs et une présomption de lien moyenne s'agissant des populations exposées professionnellement sans distinction de leur catégorie d'emploi. De nouvelles données ont été acquises depuis 2013. Le suivi de la cohorte AHS aux États-Unis n'a pas montré d'associations entre le fait d'appliquer du glyphosate dans un cadre professionnel et le risque de survenue de LNH ou de ses principaux sous-types. Néanmoins, une méta-analyse publiée par le consortium AgricoH, regroupant la cohorte AHS ainsi que deux autres cohortes de travailleurs agricoles (AGRICAN en France et CNAP en Norvège) et totalisant plus de 300 000 sujets dont 2 430 cas de LNH, a montré une association statistiquement significative entre le risque de survenue d'un lymphome diffus à grandes cellules B et l'exposition au glyphosate. De ce fait, la présomption de lien entre l'exposition au glyphosate et le risque de survenue de LNH a été considérée comme moyenne quelle que soit la catégorie d'emploi (agriculteur ou autres).

Concernant le myélome multiple, l'expertise collective Inserm 2013 n'avait pas pu établir de lien de présomption entre l'exposition au glyphosate et le risque de survenue de cette pathologie car les quelques études cas-témoins, françaises et nord-américaines, ainsi que la cohorte AHS s'appuyait sur un nombre de cas limité. Récemment, un nouveau suivi de la cohorte AHS n'a pas mis en évidence d'association avec le myélome multiple. Cependant, une méta-analyse reprenant des études cas-témoins antérieures y compris certaines données issues de la cohorte AHS a montré un risque augmenté, à la limite de la significativité statistique, chez des agriculteurs exposés au glyphosate. Tenant compte de ces nouvelles données, la présomption de lien au regard du risque de survenue du myélome multiple est considérée comme faible ( $\pm$ ). Elle repose sur un faible niveau de preuves : risque élevé mais à la limite de la significativité statistique dans une méta-analyse de trois études cas-témoins et d'une cohorte.

Très peu d'informations étaient disponibles concernant l'exposition au glyphosate et la survenue de lymphome de Hodgkin lors de l'expertise collective Inserm de 2013. La littérature scientifique publiée depuis cette date est peu abondante avec trois études dont une méta-analyse (basée sur deux études cas-témoins antérieures) et un suivi de la cohorte AHS. Aucune association entre l'exposition au glyphosate et la survenue de lymphome de Hodgkin n'a

été observée. Au regard de ces résultats, aucune présomption de lien ne peut être établie.

En 2013, l'expertise collective Inserm rapportait une seule étude concernant l'exposition professionnelle au glyphosate et le risque de survenue de leucémies. Cette étude, basée sur la cohorte AHS, suggérait une augmentation du risque dans le deuxième tercile d'exposition au glyphosate. De ce fait, aucune présomption de lien n'a pu être établie et cette étude n'incluait pas les leucémies aiguës myéloïdes. Depuis 2013, deux méta-analyses ont été publiées à partir des données issues du consortium AgricoH et ont conclu à l'absence d'association avec le risque de survenue de leucémie lymphoïde chronique (LLC). Une troisième analyse a porté sur trois études cas-témoins et a également conclu à l'absence d'association avec la LLC. Deux des trois études cas-témoins ayant évalué le risque de survenue de leucémie à tricholeucocytes (un sous-type de LLC) ont montré une augmentation du risque, bien que non significative, en lien avec l'exposition au glyphosate. Un suivi récent de la cohorte AHS n'a pas confirmé la tendance à l'élévation de risque de LLC mise en évidence antérieurement. Enfin, ce nouveau suivi de l'étude AHS, à partir d'un nombre de cas limité, a pointé pour la première fois une augmentation de risque, de plus du double, de leucémie aiguë myéloïde chez les sujets les plus exposés, qui n'atteignait pas la signification statistique. Tenant compte tout particulièrement des derniers résultats de la cohorte AHS, la présomption de lien entre l'exposition au glyphosate et le risque de survenue de leucémies est considérée comme faible. Cette présomption repose sur une seule étude bien faite (cohorte AHS), nécessitant cependant d'être confirmée.

Le cancer de la prostate et le cancer de la vessie ont fait l'objet d'études en lien avec l'exposition au glyphosate au sein de la cohorte AHS. S'agissant du cancer de la prostate, les différents suivis de la cohorte au cours du temps n'ont pas montré d'excès de risque. Quant au cancer de la vessie, les auteurs ont constaté un excès de risque mais non statistiquement significatif. Actuellement et sur la base des études disponibles, il n'est pas possible d'établir une présomption de lien entre l'exposition au glyphosate et la survenue de cancers de la prostate et de la vessie.

Concernant les pathologies non tumorales, quelques études, majoritairement au sein de la cohorte AHS, indiquent que l'exposition professionnelle dans le secteur agricole à de multiples pesticides, dont le glyphosate, est associée à un risque augmenté de sifflements respiratoires (avec ou sans composante allergique) chez les hommes agriculteurs et applicateurs industriels et d'asthme allergique chez les conjointes applicatrices de pesticides. Compte tenu du nombre limité d'études et du fait que les résultats reposent

principalement sur une seule cohorte (AHS), la présomption de lien sur la santé respiratoire est qualifiée de faible.

D'autres travaux, provenant exclusivement de la cohorte AHS, ont signalé un excès de risque d'hypothyroïdie chez les hommes applicateurs de glyphosate, sans pouvoir mettre en évidence une relation dose-effet. Chez les conjointes, elles-mêmes applicatrices de glyphosate, aucune association avec le risque d'hypothyroïdie n'a été observée.

Finalement, différentes études se sont intéressées à la survenue de troubles anxio-dépressifs, de la maladie de Parkinson, de maladies rénales chroniques d'étiologie inconnue chez l'adulte, à la durée de grossesse, aux caractéristiques staturo-pondérales des nouveau-nés, à des malformations congénitales ou à la survenue de troubles neurocomportementaux chez le jeune enfant en lien avec une exposition professionnelle ou résidentielle au glyphosate. Cependant, la nature des études (écologiques), l'imprécision des mesures d'exposition, les faibles effectifs ou l'incohérence des conclusions, ne permettent pas à ce jour de conclure et donc d'établir de présomption de lien avec une exposition au glyphosate.

Qu'en est-il de la plausibilité biologique des associations observées ? De nombreuses études expérimentales ont été réalisées et celles-ci se sont intéressées au développement de pathologies cancéreuses mais aussi non cancéreuses en regard des données récentes en épidémiologie.

Le glyphosate a fait l'objet ces dernières années d'une focalisation très importante et d'un débat au sujet de sa cancérogénicité. À l'origine se trouvent les conclusions divergentes entre le Circ et d'autres agences, nationales ou internationales, chargées du classement et de la réglementation des substances chimiques. Ces divergences de conclusions s'expliquent en grande partie par les différentes approches et critères employés.

S'agissant des essais de cancérogénicité chez l'animal de laboratoire tout comme des études de mutagénicité, le niveau de preuve est relativement limité. Cependant, de nombreuses études mettent en évidence des dommages génotoxiques (cassures de l'ADN ou modifications de sa structure). Ces dommages, s'ils ne sont pas réparés sans erreur par les cellules, peuvent conduire à l'apparition de mutations et déclencher ainsi un processus de cancérogenèse. De tels effets sont cohérents avec l'induction directe ou indirecte d'un stress oxydant par le glyphosate, observée chez différentes espèces et systèmes cellulaires, parfois à des doses d'exposition compatibles avec celles auxquelles les populations peuvent être confrontées.

Au-delà de la capacité du glyphosate à induire la production d'espèces réactives de l'oxygène, d'autres caractéristiques toxicologiques ont été décrites. Le glyphosate est utilisé pour bloquer la synthèse des acides aminés chez les plantes. Son mode d'action principal repose sur le blocage d'une enzyme essentielle exprimée par les plantes mais aussi par les champignons et certaines bactéries. Contrairement à ces organismes, les animaux et l'être humain ne possèdent pas le gène codant cette enzyme. Or, des études expérimentales suggèrent des effets délétères en lien avec un mécanisme de perturbation endocrinienne, une toxicité mitochondriale (mitotoxicité associée à des perturbations comportementales dans des modèles comme le poisson zèbre), une activation des voies œstrogéniques sans liaison aux récepteurs de l'œstradiol ou une altération de la stéroïdogenèse. De nouvelles études publiées depuis 2013, qui demanderont à être confirmées, indiquent également une dérégulation de la concentration de neurotransmetteurs (compatibles avec des altérations comportementales), mais aussi du microbiote du système digestif chez plusieurs espèces animales (dont l'humain), cible logique du glyphosate puisque certaines bactéries expriment l'enzyme ciblée chez les plantes. De tels mécanismes mériteraient d'être approfondis et davantage pris en considération dans les procédures d'évaluation réglementaires.

La question environnementale et ses retentissements indirects sur la santé humaine *via* l'hypothèse d'un effet de l'utilisation du glyphosate sur les écosystèmes et leur régulation dépassent le cadre de cette expertise. Elle mériterait d'être abordée dans le cadre de l'approche intégrée et systémique « *One Health* » et devrait être intégrée par les décideurs au même titre que les aspects sociaux et économiques pour la prise de décision.

**Tableau 19.IV : Comparaison des analyses entre le Circ et le BfR/Efsa/Echa sur les tests de cancérogenèse chez les rongeurs<sup>1</sup>**

Références Souche, sexe, durée	Substance et doses <sup>2</sup>	Résultats <sup>3</sup>	Analyse des données par le Circ	Analyse des données par le BfR/Efsa/Echa
<b>Études chez la souris</b>				
Knezevich et Hogan, 1983 (EPA, 1985a ; EPA, 1985b ; EPA, 1986 ; EPA, 1991d) CD-1 ; (M/F) ; 24 mois ; TOX9552381 (Monsanto)	Glyphosate (99,7 %) à 0, 1 000, 5 000, 30 000 ppm (égal à 0, 157/190, 814/955, 4 841/5 874 mg/kg pc/j) ; exposition voie orale (croquettes)	Mâles : adénome tubulaire rénal (0/49, 0/49, 1/50, 3/50 animaux) ; pas de données sur le rein pour les femelles  Réexamen des coupes (EPA, 1986) : adénome tubulaire rénal (1/49, 0/49, 0/50, 1/50 animaux) [NS] ; carcinome rénal (0/49, 0/49, 1/50, 2/50 animaux) [p = 0,037] ; adénome tubulaire ou carcinome rénal combiné (1/49, 0/49, 1/50, 3/50 animaux) [p = 0,034]	Le rapport des pathologistes en 1986 confirme l'absence d'augmentation d'incidence en comparant les groupes traités au contrôle ; cependant le test de tendance donne une valeur de p = 0,016.	Analyse par paires résultat négatif. Contrôles historiques pour adénome ou carcinome rénal valeur jusqu'à 6 %. Toxicité ne peut être exclue à forte dose. Tumeur rénale résultat considéré comme négatif
Atkinson et coll., 1993a (JMPPR, 2006) CD-1 ; (M/F) ; 24 mois ; TOX9552382 (Chemnova)	Glyphosate (98,6 %) à 0, 100, 300, 1 000 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Mâles : hémangiosarcome (0/50, 0/50, 0/50, 4/50) ; histiosarcome dans tissu hématopoïétique (0/50, 2/50, 0/50, 2/50) ; lymphome (4/50, 2/50, 1/50, 6/50)  Femelles : hémangiosarcome (0/50, 2/50, 0/50, 1/50) ; histiosarcome dans tissu hématopoïétique (0/50, 3/50, 3/50, 1/50) ; lymphome (14/50, 12/50, 9/50, 13/50)	Test de tendance p < 0,001 pour hémangiosarcome chez les mâles (non significatif pour les femelles et les autres tumeurs chez les deux sexes)	Analyse par paires résultat négatif. L'incidence basale pour l'hémangiosarcome est de 12 % si tous les organes sont considérés. L'incidence observée relève d'un effet spontané non relié au traitement.
George et coll., 2010 Swiss ; (M) ; 32 semaines ; ASB2012-11829, étude initiation-promotion	GBH (Roundup Original : 41 % glyphosate, 15 % POEA) ; 25 mg/kg pc ; exposition cutanée	Tumeurs cutanées (papillomes) : contrôles : 0/20 ; GBH (3 fois par semaine) : 0/20 ; GBH (1 ou 9 doses) puis TPA : 0/20 ; DMBA puis GBH (3 fois par semaine) : 8/20	Durée de traitement courte, pas de contrôle des solvants, pas d'évaluation histopathologique, âge de début d'expérimentation non renseigné. Conclusion : étude non pertinente	Étude inadéquate pour tester un effet carcinogène du glyphosate

Tableau 19.IV : (suite)

Références Souche, sexe, durée	Substance et doses <sup>2</sup>	Résultats <sup>3</sup>	Analyse des données par le Circ	Analyse des données par le BfR/Efsa/Echa
Wood et coll., 2009b CD-1 ; (M/F) ; 18 mois ; ASB2012-11492 (Nufarm)	Glyphosate (95,7 %) : 0, 500, 1 500, 5 000 ppm (égal à 71/98 ; 234/299 ; 810/1 081 mg/kg pc/j) ; exposition voie orale	Pas d'augmentation d'incidence de tumeur, cependant mâles : lymphome : (0/51, 1/51, 2/51, 5/51) ; femelles : lymphome : (11/51, 8/51, 10/51, 11/51)	Analyse réalisée pour le Circ par un expert externe a conclu à une association significative pour les mâles (p = 0,004) ; étude non considérée	Résultat négatif
Kumar, 2001 Swiss albino ; (M/F) ; 18 mois ; ASB2012-11491 (ADAMA)	Glyphosate (95,14 %) : 0, 100, 1 000, 10 000 ppm (égal à 15 ; 151 ; 1 460 mg/kg pc/j pour les mâles et femelles)	Augmentation d'incidence de lymphome à dose élevée chez les mâles, modification histologique de l'estomac ; mâles : lymphome (10/50, 15/50, 16/50, 19/50) ; femelles : lymphome (18/50, 20/50, 19/50, 25/50)	Analyse réalisée pour le Circ par un expert externe a conclu à une association significative pour les mâles (p = 0,05) ; étude non considérée	Tenant compte des contrôles historiques (18 à 27 % de lymphomes chez les mâles, voire jusqu'à 50 % mais l'étude rapporte cette valeur à une infection virale de la souche « CFW Swiss »), quelques indications de cancérogenèse mais non suffisante pour être prise en compte pour une classification
Sugimoto, 1997 CD-1 ; (M/F) ; 18 mois ; ASB2012-11493 (Arysta)	Glyphosate (97,56 % et 94,61 %) : 0, 1 600, 8 000, 40 000 ppm (égal à 165/153 ; 838/787 ; 4 348/4 116 mg/kg pc/j)	Pas de réponse positive en cancérogénicité ; mâles : lymphome (2/50, 2/50, 0/50, 6/50) ; femelles : lymphomes (6/50, 4/50, 8/50, 7/50)	Étude non considérée	Résultat négatif
<b>Études chez le rat</b>				
Séralini et coll., 2014 Sprague-Dawley ; (M/F) ; 24 mois	GBH : 0, 1,1 x 10 <sup>-8</sup> %, 0,09 %, 0,5 % (égal à 0, 50 ng/l, 400 mg/l, 2,25 g/l glyphosate) ; exposition par l'eau de boisson	Mâles : pas d'augmentation d'incidence de tumeurs ; femelles : tumeurs mammaires (5/10, 9/10, 10/10, 9/10), anomalies hypophysaires (6/10, 8/10, 7/10, 7/10)	Pas d'information sur la composition de la formulation, histopathologie peu décrite et non discutée, nombre d'animaux trop faible. Conclusion : étude non pertinente	Taille des groupes trop faible (10 M et 10 F), non pris en compte dans l'évaluation CLP
Chruscielska et coll., 2000 Wistar ; (M/F) ; 24 mois	Glyphosate (sel d'ammonium) : 0, 300, 900, 2 700 mg/l ; exposition par l'eau de boisson	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs (55 M et 55 F)	Peu d'information sur les régimes, l'histopathologie et l'incidence des tumeurs	Sel testé et non l'acide, protocole discutable, non pris en compte dans l'évaluation CLP

Tableau 19.IV : (suite)

Références Souche, sexe, durée	Substance et doses <sup>2</sup>	Résultats <sup>3</sup>	Analyse des données par le Circ	Analyse des données par le BfR/Efsa/Echa
Milburn, 1996 (JMPPR, 2006) Wistar ; (M/F) ; 12 mois	Glyphosate (95,6 %) : 0, 2 000, 8 000, 20 000 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs (24 M et 24 F)	Durée limitée d'exposition	Pas mentionnée
Atkinson et coll., 1993b (JMPPR, 2006) Sprague-Dawley ; (M/F) ; 24 mois ; TOX9750499 (Cheminova)	Glyphosate (98,7 % et 98,9 %) : 0, 10, 100, 300, 1 000 mg/kg pc/j ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs	Résultat négatif	Résultat négatif
Brammer, 2001 (JMPPR, 2006) Wistar ; (M/F) ; 24 mois ; ASB2012-11488 (Syngenta)	Glyphosate (97,6 %) : 0, 2 000, 6 000, 20 000 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs	Résultat négatif	Résultat négatif
Stout et Ruecker, 1990 (EPA, 1991d ; EPA, 1991b ; EPA, 1991c ; EPA, 1991a) Sprague-Dawley ; (M/F) ; 24 mois ; TOX9300244 (Monsanto)	Glyphosate (96,5 %) : 0, 2 000, 8 000, 20 000 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Mâles : adénome pancréatique (1/58, 8/57, 5/60, 7/59), carcinome pancréatique (1/58, 0/57, 0/60, 0/59), adénome et carcinome combinés (2/58, 8/57, 5/60, 7/59), adénome hépatique (2/60, 2/60, 3/60, 7/60), carcinome hépatique (3/60, 2/60, 1/60, 2/60) Femelles : adénome pancréatique (5/60, 1/60, 4/60, 0/59), carcinome pancréatique (0/60, 0/60, 0/60, 0/59), adénome et carcinome combinés (5/60, 1/60, 4/60, 0/59), adénome thyroïdien (2/60, 2/60, 6/60, 7/60) et carcinome thyroïdien (0/60, 0/60, 1/60, 0/60)	Contrôles historiques adénome pancréatique 1,8 à 8,5 % Analyses statistiques additionnelles (EPA, 1991a) : mâles : adénome pancréatique $p < 0,05$ , test de tendance $p = 0,016$ , pas de progression vers carcinome ; adénome hépatique test de tendance $p = 0,016$ , pas de progression vers carcinome ; femelles : adénome thyroïdien test de tendance $p = 0,031$ , pas d'évolution vers carcinome	Résultat positif pour tumeur du pancréas considéré comme fortuit à faible dose. Adénome hépatique chez le rat et de la thyroïde chez les femelles mais sans évolution vers le carcinome

**Tableau 19.IV : (suite)**

Références Souche, sexe, durée	Substance et doses <sup>2</sup>	Résultats <sup>3</sup>	Analyse des données par le Circ	Analyse des données par le BfR/Efsa/Echa
Lankas, 1981 (EPA, 1991d ; EPA, 1991b ; EPA, 1991c ; EPA, 1991a) Sprague-Dawley ; (M/F) ; 26 mois ; TOX2000-595 et TOX2000-1997 (Monsanto)	Glyphosate (98,7 %) : 0, 30, 100, 300 ppm ; exposition voie orale (croquettes)	Mâles : adénome pancréatique (0/50, 5/49, 2/50, 2/50), carcinome pancréatique (0/50, 0/49, 0/50, 1/50), adénome et carcinome combinés 0/50, 5/49, 2/50, 3/50) Femelles : adénome pancréatique (2/50, 1/50, 1/50, 0/50), carcinome pancréatique (0/50, 1/50, 1/50, 1/50), adénome et carcinome combinés (2/50, 2/50, 2/50, 1/50)	Absence de tendance positive d'incidence de tumeur pancréatique et absence d'évolution vers un carcinome mais augmentation dans un des groupes de mâles (30 ppm, test Fisher exact p < 0,05)	Pas d'augmentation incidence de tumeur
Wood et coll., 2009a Wistar ; (M/F) ; 24 mois ; ASB2012-11490 (Nufarm)	Glyphosate (95,7 %) : 0, 1 500, 5 000, 15 000 ppm avec augmentation jusqu'à 24 000 ppm (égal à 86/105, 285/349, et 1 077/1 382 mg/kg pc) ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation incidence de tumeur	Étude non considérée	Résultat négatif
Enomoto, 1997 Sprague-Dawley ; (M/F) ; 24 mois ; ASB2012-11484 (Arysta)	Glyphosate (94,61 % et 97,56 %) : 0, 3 000, 10 000, 30 000 ppm (égal à 104/115, 354/393, 1 127/1 247 mg/kg) ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation incidence de tumeur	Étude non considérée	Résultat négatif
Suresh, 1996 Wistar ; (M/F) ; 24 mois ;				
TOX9651587 (ADAMA)	Glyphosate (96,0 % et 96,8 %) : 0, 100, 1 000, 10 000 ppm (égal à 6,3/8,6, 59,4/88,5, 595,2/886 mg/kg) ; exposition voie orale (croquettes)	Pas d'augmentation d'incidence de tumeurs	Étude non considérée	Résultat négatif

<sup>1</sup> : les données dans ce tableau récapitulatif proviennent d'une analyse des approches réglementaires (Clausing et coll., 2018) et des rapports sur le glyphosate publiés par des agences nationales et européennes (BfR, 2015a ; BfR, 2015b ; Efsa, 2015b ; EPA, 2017 ; IARC, 2017). Les références des études non publiées des industriels sont fournies par souci de clarté.

<sup>2</sup> : les doses séparées par une barre oblique sont les données pour les mâles et les femelles.

<sup>3</sup> : les chiffres séparés par une barre oblique correspondent, pour chaque groupe d'exposition, au nombre d'animaux démontrant la pathologie par rapport au total.

Abréviations : CLP : classification, l'étiquetage et l'emballage des substances et mélanges (*Classification, Labelling and Packaging*) ; DMBA : 7,12-diméthylbenz[*a*]anthracène ; GBH : *Glyphosate-based herbicide* ; JMPR : *Joint Meeting on Pesticide Residues* de l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture des Nations Unies et de l'Organisation mondiale de la santé ; POEA : polyoxyéthylène amine ; TPA : 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate.

## RÉFÉRENCES

- Étude industrielle pour les dossiers d'évaluations réglementaires
- Étude financée par un industriel des phytosanitaires
- Un ou plusieurs auteurs sont affiliés à une industrie des phytosanitaires
- Étude où un lien d'intérêt a été identifié

Abramov AY, Smulders-Srinivasan TK, Kirby DM, *et al.* Mechanism of neurodegeneration of neurons with mitochondrial DNA mutations. *Brain* 2010 ; 133 : 797-807.

Ackermann W, Coenen M, Schrödl W, *et al.* The influence of glyphosate on the microbiota and production of botulinum neurotoxin during ruminal fermentation. *Curr Microbiol* 2015 ; 70 : 374-82.

Acquavella JF, Alexander BH, Mandel JS, *et al.* Glyphosate biomonitoring for farmers and their families: results from the Farm Family Exposure Study. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 321-6. •••

ACTA. *Index ACTA phytosanitaire 2019* : Acta Éditions, 2019 : 1040 p.

Afssa. Saisine n° 2004-SA-0069 : Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés au dépassement de la limite de qualité des pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine. Maisons-Alfort : Afssa, 2007 : 31 p., consulté le 13/01/20 :

<https://www.anses.fr/fr/system/files/EAUX2004sa0069.pdf>

Ait Bali Y, Ba-M'hamed S, Elhidar N, *et al.* Glyphosate based- herbicide exposure affects gut microbiota, anxiety and depression-like behaviors in mice. *Neurotoxicol Teratol* 2018 ; 67 : 44-9.

Ait Bali Y, Ba-M'hamed S, Bennis M. Behavioral and immunohistochemical study of the effects of subchronic and chronic exposure to glyphosate in mice. *Front Behav Neurosci* 2017 ; 11 : 146.

Alleva R, Manzella N, Gaetani S, *et al.* Organic honey supplementation reverses pesticide-induced genotoxicity by modulating DNA damage response. *Mol Nutr Food Res* 2016 ; 60 : 2243-55.

Altamirano GA, Delconte MB, Gomez AL, *et al.* Postnatal exposure to a glyphosate-based herbicide modifies mammary gland growth and development in Wistar male rats. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 111-8.

Alvarez-Moya C, Silva MR, Ramirez CV, *et al.* Comparison of the in vivo and in vitro genotoxicity of glyphosate isopropylamine salt in three different organisms. *Genet Mol Biol* 2014 ; 37 : 105-10.

Alvarez-Moya C, Silva MR, Arambula AR, *et al.* Evaluation of genetic damage induced by glyphosate isopropylamine salt using Tradescantia bioassays. *Genet Mol Biol* 2011 ; 34 : 127-30.

Andreotti G, Koutros S, Hofmann JN, *et al.* Glyphosate use and cancer incidence in the Agricultural Health Study. *J Natl Cancer Inst* 2018 ; 110 : 509-16.

Anifandis G, Katsanaki K, Lagodonti G, *et al.* The effect of glyphosate on human sperm motility and sperm DNA fragmentation. *Int J Environ Res Public Health* 2018a ; 15 : 1117.

Anifandis G, Amiridis G, Dafopoulos K, *et al.* The in vitro impact of the herbicide Roundup on human sperm motility and sperm mitochondria. *Toxics* 2018b ; 6 : 2.

Anses. E-phy, le catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages, des matières fertilisantes et des supports de culture autorisés en France, 2019a, consulté le 11/11/19 : <https://ephy.anses.fr/>

Anses. *Glyphosate. Phytopharmacovigilance. Synthèse des données de surveillance. Appui scientifique et technique.* 2017-04, 2019b, consulté le 13/01/20 : [https://www.anses.fr/fr/system/files/Fiche\\_PPV\\_Glyphosate.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/Fiche_PPV_Glyphosate.pdf)

Anses. *Guide de validation des méthodes d'analyses* : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, 2015 : 67 p., consulté le 13/01/20 : [https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES\\_GuideValidation.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES_GuideValidation.pdf)

Atkinson C, Martin T, Hudson P, *et al.* *Glyphosate: 104 week combined chronic feeding/oncogenicity study in rats with 52 week interim kill (results after 104 weeks.)*. Inveresk Research International, Tranent, Scotland. Submitted to WHO by Cheminova A/S, Lemvig, Denmark. report No. 7867, IRI project No. 438623, dated 7 April 1993, [unpublished], 1993a. •

Atkinson C, Strutt A, Henderson W, *et al.* *Glyphosate: 104 week dietary carcinogenicity study in mice*. Inveresk Research International, Tranent, Scotland. Submitted to WHO by Cheminova A/S, Lemvig, Denmark. MRID 49631702. IRI project No. 438618, Report No. 7793 dated 12 April 1991, [unpublished], 1993b. •

ATSDR. *Toxicological profile for glyphosate: draft for public comment [Internet]*: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service., 2019 : 257 p., consulté le 13/01/20 : <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp214.pdf>

Bailey DC, Todt CE, Burchfield SL, *et al.* Chronic exposure to a glyphosate-containing pesticide leads to mitochondrial dysfunction and increased reactive oxygen species production in *Caenorhabditis elegans*. *Environ Toxicol Pharmacol* 2018 ; 57 : 46-52.

Barr DB, Thomas K, Curwin B, *et al.* Biomonitoring of exposure in farmworker studies. *Environ Health Perspect* 2006 ; 114 : 936-42. •••

Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, *et al.* Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 192-200.

Beckert M, Dessaux Y, Charlier C, *et al.* *Les variétés végétales tolérantes aux herbicides : Effets agronomiques, environnementaux, socio-économiques. Expertise scientifique collective.* France : CNRS-INRA, 2011, consulté le 13/01/20 : <https://www6.paris.inrae.fr/depe/Media/Fichier/Expertises/VTH/VTH-Synthese>

Ben Maamar M, Beck D, Nilsson EE, *et al.* Epigenome-wide association study for glyphosate induced transgenerational sperm DNA methylation and histone retention epigenetic biomarkers for disease. *Epigenetics* 2020 : 1-18.

Benachour N, Sipahutar H, Moslemi S, *et al.* Time- and dose-dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells. *Arch Environ Contam Toxicol* 2007 ; 53 : 126-33.

Benbrook CM. Why regulators lost track and control of pesticide risks: lessons from the case of glyphosate-based herbicides and genetically engineered-crop technology. *Curr Environ Health Rep* 2018 ; 5 : 387-95.

Benbrook CM. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ Sci Eur* 2016 ; 28 : 3.

Benito-León J, Louis ED, Villarejo-Galende A, *et al.* Under-reporting of Parkinson's disease on death certificates: a population-based study (NEDICES). *J Neurol Sci* 2014 ; 347 : 188-92.

Bernal J, Martin MT, Soto ME, *et al.* Development and application of a liquid chromatography-mass spectrometry method to evaluate the glyphosate and amino-methylphosphonic acid dissipation in maize plants after foliar treatment. *J Agric Food Chem* 2012 ; 60 : 4017-25.

BfR. *Federal Institute for Risk Assessment (BFR) Renewal Assessment Report Glyphosate Addendum 1 to RAR*, 2015a : 167 p., consulté le 13/01/20 : [https://gmwatch.org/files/Renewal\\_Assessment\\_Report\\_Glyphosate\\_Addendum1\\_RAR.pdf](https://gmwatch.org/files/Renewal_Assessment_Report_Glyphosate_Addendum1_RAR.pdf)

BfR. *Renewal Assessment Report. Glyphosate. Volume 1. Report and Proposed Decision. Revised 29 January 2015 and 31 March 2015*, 2015b : 4322 p., consulté le 13/01/20 : [https://echa.europa.eu/documents/10162/13626/renewal\\_assessment\\_report\\_addenda\\_en.pdf](https://echa.europa.eu/documents/10162/13626/renewal_assessment_report_addenda_en.pdf)

Bohn T, Cuhra M, Traavik T, *et al.* Compositional differences in soybeans on the market: glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. *Food Chem* 2014 ; 153 : 207-15.

Bolognesi C, Bonatti S, Degan P, *et al.* Genotoxic activity of glyphosate and its technical formulation Roundup. *J Agric Food Chem* 1997 ; 45 : 1957-62.

Botero-Coy AM, Ibanez M, Sancho JV, *et al.* Improvements in the analytical methodology for the residue determination of the herbicide glyphosate in soils by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2013 ; 1292 : 132-41.

Brammer A. *Glyphosate acid: two year dietary toxicity and oncogenicity study in rats. Zeneca Agrochemicals, Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, England. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG, Basel, Switzerland report No. CTL/PR1111, study No. PR1111, dated 15 March 2001, [Unpublished], 2001.* •

Bridges RS. Long-term alterations in neural and endocrine processes induced by motherhood in mammals. *Horm Behav* 2016 ; 77 : 193-203.

Bridi D, Altenhofen S, Gonzalez JB, *et al.* Glyphosate and Roundup((R)) alter morphology and behavior in zebrafish. *Toxicology* 2017 ; 392 : 32-9.

Byer JD, Struger J, Sverko E, *et al.* Spatial and seasonal variations in atrazine and metolachlor surface water concentrations in Ontario (Canada) using ELISA. *Chemosphere* 2011 ; 82 : 1155-60.

Byer JD, Struger J, Klawunn P, *et al.* Low cost monitoring of glyphosate in surface waters using the ELISA method: an evaluation. *Environ Sci Technol* 2008 ; 42 : 6052-7.

Caballero M, Amiri S, Denney JT, *et al.* Estimated residential exposure to agricultural chemicals and premature mortality by Parkinson's disease in Washington State. *Int J Environ Res Public Health* 2018 ; 15 : 2885.

Cai W, Ji Y, Song X, *et al.* Effects of glyphosate exposure on sperm concentration in rodents: A systematic review and meta-analysis. *Environ Toxicol Pharmacol* 2017 ; 55 : 148-55.

Camacho A, Mejía D. The health consequences of aerial spraying illicit crops: The case of Colombia. *J Health Econ* 2017 ; 54 : 147-60.

Cattani D, Cesconetto PA, Tavares MK, *et al.* Developmental exposure to glyphosate-based herbicide and depressive-like behavior in adult offspring: Implication of glutamate excitotoxicity and oxidative stress. *Toxicology* 2017 ; 387 : 67-80.

Chang ET, Delzell E. Systematic review and meta-analysis of glyphosate exposure and risk of lymphohematopoietic cancers. *J Environ Sci Health B* 2016 ; 51 : 402-34. ●●

Chereau S, Rogowsky P, Laporte B, *et al.* Rat feeding trials: A comprehensive assessment of contaminants in both genetically modified maize and resulting pellets. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 121 : 573-82.

Chevrier C, Limon G, Monfort C, *et al.* Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environ Health Perspect* 2011 ; 119 : 1034-41.

Chevrier C, Petit C, Limon G, Monfort C, *et al.* Biomarqueurs urinaires d'exposition aux pesticides des femmes enceintes de la cohorte Pélagie réalisée en Bretagne (2002-2006). *Bull Epidemiol Hebd (Paris)* 2009 : 23.

Chruscielska K, Brzezinski J, Kita K, *et al.* Glyphosate – evaluation of chronic activity and possible far-reaching effects: Part 1. Studies on chronic toxicity. *Pestycydy (Warsaw)* 2000 : 11-20.

Clausing P, Robinson C, Burtscher-Schaden H. Pesticides and public health: an analysis of the regulatory approach to assessing the carcinogenicity of glyphosate in the European Union. *J Epidemiol Community Health* 2018 ; 72 : 668.

Clegg BS, Stephenson GR, Hall JC. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of glyphosate. *J Agric Food Chem* 1999 ; 47 : 5031-7.

Commissariat général au développement durable. *Les pesticides dans les cours d'eau français en 2013* : Commissariat général au développement durable, 2015 : 12 p., consulté le 13/01/20 :

<https://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/sites/default/files/2018-10/chiffres-stats697-pesticides-dans-cours-deau2013-novembre2015.pdf>

Connolly A, Coggins MA, Galea KS, *et al.* Evaluating glyphosate exposure routes and their contribution to total body burden: a study among amenity horticulturalists. *Ann Work Expo Health* 2019a ; 63 : 133-47.

Connolly A, Jones K, Basinas I, *et al.* Exploring the half-life of glyphosate in human urine samples. *Int J Hyg Environ Health* 2019b ; 222 : 205-10.

Connolly A, Basinas I, Jones K, *et al.* Characterising glyphosate exposures among amenity horticulturists using multiple spot urine samples. *Int J Hyg Environ Health* 2018 ; 221 : 1012-22.

Connolly A, Jones K, Galea KS, *et al.* Exposure assessment using human biomonitoring for glyphosate and fluroxypyr users in amenity horticulture. *Int J Hyg Environ Health* 2017 ; 220 : 1064-73.

Conrad A, Schroter-Kermani C, Hoppe HW, *et al.* Glyphosate in German adults - Time trend (2001 to 2015) of human exposure to a widely used herbicide. *Int J Hyg Environ Health* 2017 ; 220 : 8-16.

Conti CL, Barbosa WM, Simao JBP, *et al.* Pesticide exposure, tobacco use, poor self-perceived health and presence of chronic disease are determinants of depressive symptoms among coffee growers from Southeast Brazil. *Psychiatry Res* 2018 ; 260 : 187-92.

Curwin BD, Hein MJ, Sanderson WT, *et al.* Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers living in farm and non-farm households in Iowa. *Ann Occup Hyg* 2006 ; 51 : 53-65.

Dallegrave E, Mantese FD, Oliveira RT, *et al.* Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Arch Toxicol* 2007 ; 81 : 665-73.

Dallegrave E, Mantese FD, Coelho RS, *et al.* The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup® in Wistar rats. *Toxicol Lett* 2003 ; 142 : 45-52.

De Araujo JSA, Delgado IF, Paumgarten FJR. Glyphosate and adverse pregnancy outcomes, a systematic review of observational studies. *BMC Public Health* 2016 ; 16 : 472.

De Liz Oliveira Cavalli VL, Cattani D, Heinz Rieg CE, *et al.* Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells. *Free Radic Biol Med* 2013 ; 65 : 335-46.

De Marco A, Simone C de, Raglione M, *et al.* Importance of the type of soil for the induction of micronuclei and the growth of primary roots of *Vicia faba* treated with the herbicides atrazine, glyphosate and maleic hydrazide. *Mutation Research/ Genetic Toxicology* 1992 ; 279 : 9-13.

de Roos AJ, Blair A, Rusiecki JA, *et al.* Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 49-54.

Dechartres J, Pawluski JL, Gueguen MM, *et al.* Glyphosate and glyphosate-based herbicide exposure during the peripartum period affects maternal brain plasticity, maternal behaviour and microbiome. *J Neuroendocrinol* 2019 ; 31 : e12731.

Defarge N, Takacs E, Lozano VL, *et al.* Co-Formulants in glyphosate-based herbicides disrupt aromatase activity in human cells below toxic levels. *Int J Environ Res Public Health* 2016 ; 13 : 264.

polluants de l'environnement en France en 2011 : Volet périnatal du programme national de biosurveillance mis en œuvre au sein de la cohorte Elfe. Tome 1 : polluants organiques. Saint-Maurice, France : Institut de veille sanitaire, 2016 : 261 p.

Douwes J, t Mannetje A, McLean D, *et al.* Carcinogenicity of glyphosate: why is New Zealand's EPA lost in the weeds? *N Z Med J* 2018 ; 131 : 82-9.

Echa. *CLH report for glyphosate. Proposal for harmonised classification and labelling. Substance name: N-(phosphonomethyl)glycine ; Glyphosate(ISO)*, 2016 : 169 p

Efsa. Review of the existing maximum residue levels for glyphosate according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005 – revised version to take into account omitted data. *EFSA J* 2019a ; 17 : 5862.

Efsa. Scientific report on the 2017 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J* 2019b ; 17 : 5743.

Efsa. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the potential endocrine disrupting properties of glyphosate. *EFSA J* 2017 ; 15 : 4979.

Efsa. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate. *EFSA J* 2015a ; 13 : 4302.

Efsa. *Peer Review Report on glyphosate*, 2015b : 1929 p.

Elbaz A, Clavel J, Rathouz PJ, *et al.* Professional exposure to pesticides and Parkinson disease. *Ann Neurol* 2009 ; 66 : 494-504.

El-Zaemey S, Schinasi LH, Ferro G, *et al.* Animal farming and the risk of lympho-haematopoietic cancers: a meta-analysis of three cohort studies within the AGRICOH consortium. *Occup Environ Med* 2019 ; 76 : 827-37.

Enomoto A. *HR-001: 24-month oral chronic toxicity and oncogenicity study in rats, The Institute of Environmental Toxicology, Arysta Life Sciences, Kodaira-shi, Tokyo, Japan [Unpublished]*, 1997. •

EPA. *Revised glyphosate issue paper: evaluation of carcinogenic potential*: Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 2017 : 216 p., consulté le 13/01/20 :

<https://www.regulations.gov/contentStreamer?documentId=EPA-HQ-OPP-2009-0361-0073&contentType=pdf>

EPA. *EDSP: Weight of evidence analysis of potential interaction with the estrogen, androgen or thyroid pathways: Chemical: Glyphosate*: Office of Pesticide Programs, Office of Science Coordination and Policy, U.S. Environmental Protection Agency, 2015 : 70 p., consulté le 13/01/20 :

<https://www.regulations.gov/contentStreamer?documentId=EPA-HQ-OPP-2009-0361-0047&disposition=attachment&contentType=pdf>

EPA. *EPA Reg.#: 524-308 ; 2-year chronic feeding/oncogenicity study in rats with technical glyphosate. Document No. 008897*. Washington (DC): Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1991a, consulté le 13/01/20 :

<https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-268.pdf>

EPA. *Glyphosate ; 2-year combined chronic toxicity/carcinogenicity study in Sprague-Dawley rats - List A pesticide for reregistration. Document No. 008390.* Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1991b, consulté le 13/01/20 :

<https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-263.pdf>

EPA. *Peer review on glyphosate. Document No. 008527.* Washington (DC) : US Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances, 1991c.

EPA. *Second peer review of glyphosate.* Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1991d, consulté le 13/01/20 :

<https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-265.pdf>

EPA. EPA Reg.# : 524-308 ; *Glyphosate ; Roundup ; additional histopathological evaluations of kidneys in the chronic feeding study of glyphosate in mice. Document No. 005590.* Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1986 [consulté le 13/01/20 :

<https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-211.pdf>

EPA. EPA Reg.# : 524-308 ; *Glyphosate ; Mouse oncogenicity study. Document No. 004370.* Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1985a, consulté le 13/01/20 :

<https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-183.pdf>

EPA. EPA Reg.# : 524-308 ; *Roundup ; glyphosate ; pathology report on additional kidney sections. Document No. 004855.* Washington (DC) : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1985b, consulté le 13/01/20 :

<https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-207.pdf>

EPA. EPA Reg.# : 524-308 ; *Glyphosate ; Submission of rat teratology, rabbit teratology, dominant lethal mutagenicity assay in mice.* Washington, DC : Office of Pesticides and Toxic Substances, United States Environmental Protection Agency, 1980, consulté le 13/01/20 :

<https://archive.epa.gov/pesticides/chemicalsearch/chemical/foia/web/pdf/103601/103601-090.pdf>

Eriksson M, Hardell L, Carlberg M, *et al.* Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis. *Int J Cancer* 2008 ; 123 : 1657-63.

Faita MR, Oliveira EdM, Alves VV, *et al.* Changes in hypopharyngeal glands of nurse bees (*Apis mellifera*) induced by pollen-containing sublethal doses of the herbicide Roundup®. *Chemosphere* 2018 ; 211 : 566-72.

Faniband MH, Norén E, Littorin M, *et al.* Human experimental exposure to glyphosate and biomonitoring of young Swedish adults. *Int J Hyg Environ Health* 2021 ; 231 : 113657.

Farmer D. Chapter 92 - Inhibitors of aromatic acid biosynthesis. In : Krieger R, ed. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Third Edition)*. New York, 2010 : 1967-72.

- Forgacs AL, Ding Q, Jaremba RG, *et al.* BLTK1 murine Leydig cells: a novel steroidogenic model for evaluating the effects of reproductive and developmental toxicants. *Toxicol Sci* 2012 ; 127 : 391-402.
- Forsythe SD., Devarasetty M, Shupe T, *et al.* Environmental toxin screening using human-derived 3D bioengineered liver and cardiac organoids. *Front Public Health* 2018 ; 6 : 103.
- Fréry N, Guldner L, Saoudi A, *et al.* *Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Tome 2 : Polychlorobiphényles (PCB-NDL) et pesticides.* Saint-Maurice, France : Institut de veille sanitaire, 2013 : 178 p [consulté le 13/01/20 : <https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/182197/2306215>].
- Frescura VD, Kuhn AW, Laughinghouse HD 4th, *et al.* Post-treatment with plant extracts used in Brazilian folk medicine caused a partial reversal of the antiproliferative effect of glyphosate in the *Allium cepa* test. *Biocell* 2013 ; 37 : 23-8.
- Galland L. The gut microbiome and the brain. *J Med Food* 2014 ; 17 : 1261-72.
- Gallegos CE, Baier CJ, Bartos M, *et al.* Perinatal glyphosate-based herbicide exposure in rats alters brain antioxidant status, glutamate and acetylcholine metabolism and affects recognition memory. *Neurotox Res* 2018 ; 34 : 363-74.
- Garry VF, Harkins ME, Erickson LL, *et al.* Birth defects, season of conception, and sex of children born to pesticide applicators living in the Red River Valley of Minnesota, USA. *Environ Health Perspect* 2002 ; 110 Suppl 3 : 441-9.
- George J, Prasad S, Mahmood Z, *et al.* Studies on glyphosate-induced carcinogenicity in mouse skin: a proteomic approach. *J Proteomics* 2010 ; 73 : 951-64.
- Ghisi Nde C, de Oliveira EC, Prioli AJ. Does exposure to glyphosate lead to an increase in the micronuclei frequency? A systematic and meta-analytic review. *Chemosphere* 2016 ; 145 : 42-54.
- Gillezeau C, van Gerwen M, Shaffer RM, *et al.* The evidence of human exposure to glyphosate: a review. *Environ Health* 2019 ; 18 : 2.
- Goldacre MJ, Duncan M, Griffith M, *et al.* Trends in death certification for multiple sclerosis, motor neuron disease, Parkinson's disease and epilepsy in English populations 1979-2006. *J Neurol* 2010 ; 257 : 706-15.
- Gomez AL, Altamirano GA, Leturia J, *et al.* Male mammary gland development and methylation status of estrogen receptor alpha in Wistar rats are modified by the developmental exposure to a glyphosate-based herbicide. *Mol Cell Endocrinol* 2019 ; 481 : 14-25.
- Gress S, Lemoine S, Puddu PE, *et al.* Cardiotoxic electrophysiological effects of the herbicide Roundup® in rat and rabbit ventricular myocardium in vitro. *Cardiovasc Toxicol* 2015 ; 15 : 324-35.
- Guerrero Schimpf M, Milesi MM, Luque EH, *et al.* Glyphosate-based herbicide enhances the uterine sensitivity to estradiol in rats. *J Endocrinol* 2018 ; 239 : 197.
- Guerrero Schimpf M, Milesi MM, Ingaramo PI, *et al.* Neonatal exposure to a glyphosate based herbicide alters the development of the rat uterus. *Toxicology* 2017 ; 376 : 2-14.

Guilherme S, Santos MA, Gaivão I, *et al.* Are DNA-damaging effects induced by herbicide formulations (Roundup® and Garlon®) in fish transient and reversible upon cessation of exposure? *Aquat Toxicol* 2014 ; 155 : 213-21.

Guilherme S, Gaivao I, Santos MA, *et al.* DNA damage in fish (*Anguilla anguilla*) exposed to a glyphosate-based herbicide -- elucidation of organ-specificity and the role of oxidative stress. *Mutat Res* 2012 ; 743 : 1-9.

Guilherme S, Gaivao I, Santos MA, *et al.* European eel (*Anguilla anguilla*) genotoxic and pro-oxidant responses following short-term exposure to Roundup--a glyphosate-based herbicide. *Mutagenesis* 2010 ; 25 : 523-30.

Henneberger PK, Liang X, London SJ, *et al.* Exacerbation of symptoms in agricultural pesticide applicators with asthma. *Int Arch Occup Environ Health* 2014 ; 87 : 423-32.

Herbert LT, Vázquez DE, Arenas A, *et al.* Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. *J Exp Biol* 2014 ; 217 : 3457.

Hernandez-Plata I, Giordano M, Diaz-Munoz M, *et al.* The herbicide glyphosate causes behavioral changes and alterations in dopaminergic markers in male Sprague-Dawley rat. *Neurotoxicology* 2015 ; 46 : 79-91.

Heu C, Berquand A, Elie-Caille C, *et al.* Glyphosate-induced stiffening of HaCaT keratinocytes, a Peak Force Tapping study on living cells. *J Struct Biol* 2012 ; 178 : 1-7.

Hohenadel K, Harris SA, McLaughlin JR, *et al.* Exposure to multiple pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma in men from six Canadian provinces. *Int J Environ Res Public Health* 2011 ; 8 : 2320-30.

Hokanson R, Fudge R, Chowdhary R, *et al.* Alteration of estrogen-regulated gene expression in human cells induced by the agricultural and horticultural herbicide glyphosate. *Hum Exp Toxicol* 2007 ; 26 : 747-52.

Hong Y, Yang X, Huang Y, *et al.* Assessment of the oxidative and genotoxic effects of the glyphosate-based herbicide roundup on the freshwater shrimp, *Macrobrachium nipponensis*. *Chemosphere* 2018 ; 210 : 896-906.

Hong Y, Yang X, Yan G, *et al.* Effects of glyphosate on immune responses and haemocyte DNA damage of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Fish Shellfish Immunol* 2017 ; 71 : 19-27.

Hoppin JA, Umbach DM, Long S, *et al.* Pesticides are associated with allergic and non-allergic wheeze among male farmers. *Environ Health Perspect* 2017 ; 125 : 535-43.

Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, *et al.* Pesticides and atopic and nonatopic asthma among farm women in the Agricultural Health Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2008 ; 177 : 11-8.

Hoppin JA, Umbach DM, London SJ, *et al.* Pesticides and adult respiratory outcomes in the Agricultural Health Study. *Ann N Y Acad Sci* 2006 ; 1076 : 343-54.

Hori Y, Fujisawa M, Shimada K, *et al.* Determination of the herbicide glyphosate and its metabolite in biological specimens by gas chromatography-mass spectrometry. A case of poisoning by Roundup herbicide. *J Anal Toxicol* 2003 ; 27 : 162-6.

IARC. *Some organophosphate insecticides and herbicides*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Volume 112. Lyon : IARC, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2017 : 464 p.

Inserm. *Pesticides : Effets sur la santé*. Collection Expertise collective. Paris : Inserm, 2013 : 1001 p.

Jauhainen A, Räsänen K, Sarantila R, *et al.* Occupational exposure of forest workers to glyphosate during brush saw spraying work. *Am Ind Hyg Assoc J* 1991 ; 52 : 61-4.

Jayasumana C, Paranagama P, Agampodi S, *et al.* Drinking well water and occupational exposure to herbicides is associated with chronic kidney disease, in Padavi-Sripura, Sri Lanka. *Environ Health* 2015a ; 14 : 6.

Jayasumana C, Gunatilake S, Siribaddana S. Simultaneous exposure to multiple heavy metals and glyphosate may contribute to Sri Lankan agricultural nephropathy. *Bmc Nephrology* 2015b ; 16 : 103.

Jensen PK, Wujcik CE, McGuire MK, *et al.* Validation of reliable and selective methods for direct determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in milk and urine using LC-MS/MS. *J Environ Sci Health B* 2016 ; 51 : 254-9. ●●●

Jiang X, Zhang N, Yin L, *et al.* A commercial Roundup? formulation induced male germ cell apoptosis by promoting the expression of XAF1 in adult mice. *Toxicol Lett* 2018 ; 296 : 163-72.

JMPR. In : *Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues. Pesticide residues in food – 2004 : toxicological evaluations : Report No. WHO/PCS/06.1*. Geneva : World Health Organisation, 2006, consulté le 13/01/20 : [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241665203\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241665203_eng.pdf)

Johnson PD, Rimmer DA, Garrod AN, *et al.* Operator exposure when applying amenity herbicides by all-terrain vehicles and controlled droplet applicators. *Ann Occup Hyg* 2005 ; 49 : 25-32.

Kamel F, Tanner C, Umbach D, *et al.* Pesticide exposure and self-reported Parkinson's disease in the agricultural health study. *Am J Epidemiol* 2007 ; 165 : 364-74.

Kašuba V, Milić M, Rozgaj R, *et al.* Effects of low doses of glyphosate on DNA damage, cell proliferation and oxidative stress in the HepG2 cell line. *Environ Sci Pollut Res* 2017 ; 24 : 19267-81.

Knezevich A, Hogan GK. *A chronic feeding study of glyphosate in mice*. Bio/Dynamic Inc. Report No. 77-2011. EPA Accession No. 251007 – 251009, and 251014. EPA Accession no. 251007-09,251014 dated July 21, 1983 [Unpublished], 1983. ●

Kojima H, Sata F, Takeuchi S, *et al.* Comparative study of human and mouse pregnane X receptor agonistic activity in 200 pesticides using in vitro reporter gene assays. *Toxicology* 2011 ; 280 : 77-87.

Koller VJ, Furrhacker M, Nersesyan A, *et al.* Cytotoxic and DNA-damaging properties of glyphosate and Roundup in human-derived buccal epithelial cells. *Arch Toxicol* 2012 ; 86 : 805-13.

- Kosumi K, Mima K, Baba H, *et al.* Dysbiosis of the gut microbiota and colorectal cancer: the key target of molecular pathological epidemiology. *J Lab Precis Med* 2018 ; 3 : 76.
- Koutros S, Silverman DT, Alavanja MC, *et al.* Occupational exposure to pesticides and bladder cancer risk. *Int J Epidemiol* 2016 ; 45 : 792-805.
- Krüger M, Schledorn P, Schrödl W, *et al.* Detection of glyphosate residues in animals and humans. *J Environ Anal Toxicol* 2014 ; 04 : 210.
- Kubsad D, Nilsson EE, King SE, *et al.* Assessment of glyphosate induced epigenetic transgenerational inheritance of pathologies and sperm epimutations: generational toxicology. *Sci Rep* 2019 ; 9 : 6372.
- Kumar DPS. *Carcinogenicity study with glyphosate technical in Swiss albino mice, Toxicology Department Rallis Research Centre, Rallis India Limited. Study No. TOXI: 1559.CARCI-M. MRID 49987403. [Unpublished]., 2001. •*
- Kurenbach B, Marjoshi D, Amabile-Cuevas CF, *et al.* Sublethal exposure to commercial formulations of the herbicides dicamba, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, and glyphosate cause changes in antibiotic susceptibility in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *mBio* 2015 ; 6 : e00009-15.
- Kwiatkowska M, Reszka E, Woźniak K, *et al.* DNA damage and methylation induced by glyphosate in human peripheral blood mononuclear cells (in vitro study). *Food Chem Toxicol* 2017 ; 105 : 93-8.
- Lanaro R, Costa JL, Cazenave SO, *et al.* Determination of herbicides paraquat, glyphosate, and aminomethylphosphonic acid in marijuana samples by capillary electrophoresis. *J Forensic Sci* 2015 ; 60 Suppl 1 : S241-7.
- Lankas GP. *A lifetime study of glyphosate in rats. Bio Dynamics, Inc. Report No. 77-2062 EPA Accession. No. 247617 – 247621. December 23, 1981. MRID 00093879. [unpublished], 1981. •*
- Lavy TL, Cowell JE, Steinmetz JR, *et al.* Conifer seedling nursery worker exposure to glyphosate. *Arch Environ Contam Toxicol* 1992 ; 22 : 6-13.
- Leon M, Schinasi LH, Lebailly P, *et al.* Pesticide use and risk of non-Hodgkin lymphoid malignancies in agricultural cohorts from France, Norway and the USA: a pooled analysis from the AGRICOH consortium. *Int J Epidemiol* 2019 ; 48 : 1519-35.
- Lerro CC, Beane Freeman LE, DellaValle CT, *et al.* Occupational pesticide exposure and subclinical hypothyroidism among male pesticide applicators. *Occup Environ Med* 2018 ; 75 : 79-89.
- Liao Y, Berthion JM, Colet I, *et al.* Validation and application of analytical method for glyphosate and glufosinate in foods by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2018 ; 1549 : 31-8.
- Li AP, Long TJ. An evaluation of the genotoxic potential of glyphosate. *Fundam Appl Toxicol* 1988 ; 10 : 537-46. •••

- Lin N, Garry V. In vitro studies of cellular and molecular developmental toxicity of adjuvants, herbicides, and fungicides commonly used in Red River Valley, Minnesota. *J Toxicol Environ Health A* 2000 ; 60 : 423-39.
- Lioi MB, Scarfi MR, Santoro A, *et al.* Genotoxicity and oxidative stress induced by pesticide exposure in bovine lymphocyte cultures in vitro. *Mutat Res* 1998 ; 403 : 13-20.
- Li Q, Lambrechts MJ, Zhang Q, *et al.* Glyphosate and AMPA inhibit cancer cell growth through inhibiting intracellular glycine synthesis. *Drug Des Devel Ther* 2013 ; 7 : 635-43.
- Lopes FM, Sandrini JZ, Souza MM. Toxicity induced by glyphosate and glyphosate-based herbicides in the zebrafish hepatocyte cell line (ZF-L). *Ecotoxicol Environ Saf* 2018 ; 162 : 201-7.
- Lorenz V, Milesi MM, Schimpf MG, *et al.* Epigenetic disruption of estrogen receptor alpha is induced by a glyphosate-based herbicide in the preimplantation uterus of rats. *Mol Cell Endocrinol* 2019 ; 480 : 133-41.
- Lozano VL, Defarge N, Rocque L-M, *et al.* Sex-dependent impact of Roundup on the rat gut microbiome. *Toxicol Rep* 2018 ; 5 : 96-107.
- Luaces JP, Rossi LF, Chirino MG, *et al.* Genotoxic effects of Roundup Full II® on lymphocytes of *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Mammalia): In vitro studies. *PLoS One* 2017 ; 12 : e0182911.
- Malatesta M, Perdoni F, Santin G, *et al.* Hepatoma tissue culture (HTC) cells as a model for investigating the effects of low concentrations of herbicide on cell structure and function. *Toxicol in Vitro* 2008 ; 22 : 1853-60.
- Mamy L, Barriuso E, Gabrielle B. Glyphosate fate in soils when arriving in plant residues. *Chemosphere* 2016 ; 154 : 425-33.
- Mamy L. *Comparaison des impacts environnementaux des herbicides à large spectre et des herbicides sélectifs : caractérisation de leur devenir dans le sol et modélisation.* Grignon, France. Doctorat, 2004.
- Mañas F, Peralta L, Raviolo J, *et al.* Genotoxicity of AMPA, the environmental metabolite of glyphosate, assessed by the Comet assay and cytogenetic tests. *Ecotoxicol Environ Saf* 2009a ; 72 : 834-7.
- Mañas F, Peralta L, Raviolo J, *et al.* Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environ Toxicol Pharmacol* 2009b ; 28 : 37-41.
- Manservigi F, Lesseur C, Panzacchi S, *et al.* The Ramazzini Institute 13-week pilot study glyphosate-based herbicides administered at human-equivalent dose to Sprague Dawley rats: effects on development and endocrine system. *Environ Health* 2019 ; 18 : 15.
- Mao Q, Manservigi F, Panzacchi S, *et al.* The Ramazzini Institute 13-week pilot study on glyphosate and Roundup administered at human-equivalent dose to Sprague Dawley rats: effects on the microbiome. *Environ Health* 2018 ; 17 : 50.
- Martins-Junior HA, Lebre DT, Wang AY, *et al.* An alternative and fast method for determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) residues in soybean using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2009 ; 23 : 1029-34.

- Mertens M, Höss S, Neumann G, *et al.* Glyphosate, a chelating agent†relevant for ecological risk assessment? *Environ Sci Pollut Res Int* 2018 ; 25 : 5298-317.
- Mesnage R, Biserni M, Wozniak E, *et al.* Comparison of transcriptome responses to glyphosate, isoxaflutole, quizalofop-p-ethyl and mesotrione in the HepaRG cell line. *Toxicol Rep* 2018 ; 5 : 819-26.
- Mesnage R, Phedonos A, Biserni M, *et al.* Evaluation of estrogen receptor alpha activation by glyphosate-based herbicide constituents. *Food Chem Toxicol* 2017 ; 108 : 30-42.
- Mesnage R, Antoniou MN. Facts and fallacies in the debate on glyphosate toxicity. *Front Public Health* 2017 ; 5 : 316.
- Mesnage R, Defarge N, Spiroux de Vendomois J, *et al.* Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. *Food Chem Toxicol* 2015 ; 84 : 133-53.
- Mesnage R, Bernay B, Seralini GE. Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. *Toxicology* 2013 ; 313 : 122-8.
- Mesnage R, Moesch C, Le Grand RG, *et al.* Glyphosate exposure in a farmer's family. *JEP* 2012 ; 03 : 1001-3.
- Milburn GM. *Glyphosate acid: one year dietary toxicity study in rats. Unpublished report No. CTL/P/5143, study No. PR 1012, dated 2 October 1996, from Zeneca Agrochemicals, Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, England. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG, Basel, Switzerland., 1996.* •
- Milesi MM, Lorenz V, Pacini G, *et al.* Perinatal exposure to a glyphosate-based herbicide impairs female reproductive outcomes and induces second-generation adverse effects in Wistar rats. *Arch Toxicol* 2018 ; 92 : 2629-43.
- Ministère de la Transition écologique et solidaire. L'environnement en France – Rapport sur l'état de l'environnement. Les pesticides dans les eaux souterraines – Fiches thématiques – Mise à jour le 11 octobre 2019.  
<https://ree.developpement-durable.gouv.fr/themes/risques-nuisances-pollutions/pollution-de-l-eau-douce/pesticides/article/les-pesticides-dans-les-eaux-souterraines>
- Motta EVS, Raymann K, Moran NA. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018 ; 115 : 10305.
- Negga R, Rudd DA, Davis NS, *et al.* Exposure to Mn/Zn ethylene-bis-dithiocarbamate and glyphosate pesticides leads to neurodegeneration in *Caenorhabditis elegans*. *Neurotoxicology* 2011 ; 32 : 331-41.
- Niemann L, Sieke C, Pfeil R, *et al.* A critical review of glyphosate findings in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumers. *J Verbr Lebensm* 2015 ; 10 : 3-12.
- Niemeyer JC, de Santo FB, Guerra N, *et al.* Do recommended doses of glyphosate-based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment. *Chemosphere* 2018 ; 198 : 154-60.

- Nwani CD, Nagpure NS, Kumar R, *et al.* DNA damage and oxidative stress modulatory effects of glyphosate-based herbicide in freshwater fish, *Channa punctatus*. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013 ; 36 : 539-47.
- OECD. *Guidance document on revisions to OECD genetic toxicology test guidelines*, 2015 : 58 p.
- Owagboriaye FO, Dedeke GA, Ademolu KO, *et al.* Reproductive toxicity of Roundup herbicide exposure in male albino rat. *Exp Toxicol Pathol* 2017 ; 69 : 461-8.
- Paganelli A, Gnazzo V, Acosta H, *et al.* Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chem Res Toxicol* 2010 ; 23 : 1586-95.
- Pahwa M, Beane Freeman LE, Spinelli JJ, *et al.* Glyphosate use and associations with non-Hodgkin lymphoma major histological sub-types: findings from the North American Pooled Project. *Scand J Work Environ Health* 2019 ; 45 : 600-9.
- Panzacchi S, Mandrioli D, Manservigi F, *et al.* The Ramazzini Institute 13-week study on glyphosate-based herbicides at human-equivalent dose in Sprague Dawley rats: study design and first in-life endpoints evaluation. *Environ Health* 2018 ; 17 : 52.
- Parajuli RK, Zhang Q, Liu S, *et al.* Aminomethylphosphonic acid and methoxyacetic acid induce apoptosis in prostate cancer cells. *Int J Mol Sci* 2015 ; 16 : 11750.
- Parvez S, Gerona RR, Proctor C, *et al.* Glyphosate exposure in pregnancy and shortened gestational length: a prospective Indiana birth cohort study. *Environ Health* 2018 ; 17 : 23.
- Patel O, Syamlal G, Henneberger PK, *et al.* Pesticide use, allergic rhinitis, and asthma among US farm operators. *J Agromedicine* 2018 ; 23 : 327-35.
- Paulson GW, Gill WM. Are death certificates reliable to estimate the incidence of Parkinson's disease? *Mov Disord* 1995 ; 10 : 678.
- Pereira AG, Jaramillo ML, Remor AP, *et al.* Low-concentration exposure to glyphosate-based herbicide modulates the complexes of the mitochondrial respiratory chain and induces mitochondrial hyperpolarization in the *Danio rerio* brain. *Chemosphere* 2018 ; 209 : 353-62.
- Perry MJ, Mandrioli D, Belpoggi F, *et al.* Historical evidence of glyphosate exposure from a US agricultural cohort. *Environ Health* 2019 ; 18 : 42.
- Pham TH, Derian L, Kervarrec C, *et al.* Perinatal exposure to glyphosate and a glyphosate-based herbicide affect spermatogenesis in mice. *Toxicol Sci* 2019 ; 169 : 260-71.
- Pirus C, Bois C, Dufourg M-N, *et al.* Constructing a cohort: experience with the French Elfe Project. *Population (Engl Ed)* 2010 ; 65 : 543-74.
- Portier CJ, Armstrong BK, Baguley BC, *et al.* Differences in the carcinogenic evaluation of glyphosate between the International Agency for Research on Cancer (IARC) and the European Food Safety Authority (EFSA). *J Epidemiol Community Health* 2016 ; 70 : 741-5.
- Prasad S, Srivastava S, Singh M, *et al.* Clastogenic effects of glyphosate in bone marrow cells of swiss albino mice. *J Toxicol* 2009 ; 2009 : 308985.

Rank J, Jensen AG, Skov B, *et al.* Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, Salmonella mutagenicity test, and Allium anaphase-telophase test. *Mutat Res* 1993 ; 300 : 29-36.

Rappazzo KM, Warren JL, Davalos AD, *et al.* Maternal residential exposure to specific agricultural pesticide active ingredients and birth defects in a 2003-2005 North Carolina birth cohort. *Birth Defects Res* 2019 ; 111 : 312-23.

Ravier S, Désert M, Gille G, *et al.* Monitoring of glyphosate, glufosinate-ammonium, and (aminomethyl)phosphonic acid in ambient air of Provence-Alpes-Côte-d'Azur Region, France. *Atmos Environ* 2019 ; 204 : 102-9.

Reboud X, Blanck M, Aubertot JN, *et al.* Usage et alternatives au glyphosate dans l'agriculture française - Rapport : Inra, 2017 : 88 p

Rendon-von Osten J, Dzul-Caamal R. Glyphosate residues in groundwater, drinking water and urine of subsistence farmers from intensive agriculture localities: a survey in Hopelchén, Campeche, Mexico. *Int J Environ Res Public Health* 2017 ; 14 : 595.

Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, *et al.* Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ Health Perspect* 2005 ; 113 : 716-20.

Roberts DM, Buckley NA, Mohamed F, *et al.* A prospective observational study of the clinical toxicology of glyphosate-containing herbicides in adults with acute self-poisoning. *Clin Toxicol (Phila)* 2010 ; 48 : 129-36. ●●●

Romano MA, Romano RM, Santos LD, *et al.* Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Arch Toxicol* 2012 ; 86 : 663-73.

Rossberger S. *Glyphosate: DNA repair test with primary rat hepatocytes Report : 931564, TOX9400697/ TOX9551099 [unpublished], 1994.* ●

Roustan A, Aye M, De Meo M, *et al.* Genotoxicity of mixtures of glyphosate and atrazine and their environmental transformation products before and after photoactivation. *Chemosphere* 2014 ; 108 : 93-100.

Rubio F, Veldhuis LJ, Clegg BS, *et al.* Comparison of a direct ELISA and an HPLC method for glyphosate determinations in water. *J Agric Food Chem* 2003 ; 51 : 691-6.

Rugarli EI, Langer T. Mitochondrial quality control: a matter of life and death for neurons. *EMBO J* 2012 ; 31 : 1336-49.

Schinasi L, Leon M. Non-Hodgkin lymphoma and occupational exposure to agricultural pesticide chemical groups and active ingredients: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2014 ; 11 : 4449-527.

Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, *et al.* Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environ Sci Eur* 2014 ; 26 : 14.

Shehata AA, Schrödl W, Aldin AA, *et al.* The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota in vitro. *Curr Microbiol* 2013 ; 66 : 350-8.

- Shrestha S, Parks CG, Goldner WS, *et al.* Incident thyroid disease in female spouses of private pesticide applicators. *Environ Int* 2018a ; 118 : 282-92.
- Shrestha S, Parks CG, Goldner WS, *et al.* Pesticide use and incident hypothyroidism in pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect* 2018b ; 126 : 97008.
- Silva V, Montanarella L, Jones A, *et al.* Distribution of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in agricultural topsoils of the European Union. *Sci Total Environ* 2018 ; 621 : 1352-9.
- Smpokou ET, Gonzalez-Quiroz M, Martins C, *et al.* Environmental exposures in young adults with declining kidney function in a population at risk of Mesoamerican nephropathy. *Occup Environ Med* 2019 ; 76 : 920-6.
- Sorahan T. Multiple myeloma and glyphosate use: a re-analysis of US Agricultural Health Study (AHS) data. *Int J Environ Res Public Health* 2015 ; 12 : 1548-59. ••
- Sribanditmongkol P, Jutavijittum P, Pongraveevongsa P, *et al.* Pathological and toxicological findings in glyphosate-surfactant herbicide fatality: a case report. *Am J Forensic Med Pathol* 2012 ; 33 : 234-7.
- Sritana N, Suriyo T, Kanitwithayanun J, *et al.* Glyphosate induces growth of estrogen receptor alpha positive cholangiocarcinoma cells via non-genomic estrogen receptor/ERK1/2 signaling pathway. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 118 : 595-607.
- Stout L, Ruecker PA. *Chronic study of glyphosate administered in feed to albino rats.* MRID No. 41643801 ; *Historical Controls.* MRID 41728700. [Unpublished], 1990. •
- Stur E, Aristizabal-Pachon AF, Peronni KC, *et al.* Glyphosate-based herbicides at low doses affect canonical pathways in estrogen positive and negative breast cancer cell lines. *PLoS One* 2019 ; 14 : e0219610.
- Sugimoto K. HR-001 : 18-Month oral oncogenicity study in mice, Vol. 1 and 2. *The Institute of Environmental Toxicology, 2-772, Suzuki-cho, Kodaira-shi, Tokyo, 187, Japan, Study No. : IET 94-0151.* MRID 50017108, 50017109. [unpublished], 1997. •
- Suresh TP. *Combined chronic toxicity and carcinogenicity study with glyphosate technical in Wistar rats.* Toxicology Department Rallis Research Centre, Rallis India Limited, TOXI-1559, 002/1-GPT-CARCI-M. MRID 49987401. [Unpublished], 1996. •
- Székács A, Darvas B. Chapter 14 - Forty years with glyphosate. In : Mohammed Naguib Abd El-Ghany Hasaneen, ed. *Herbicides: Properties, synthesis and control of weeds*: IntechOpen, 2012.
- Takeuchi S, Iida M, Yabushita H, *et al.* In vitro screening for aryl hydrocarbon receptor agonistic activity in 200 pesticides using a highly sensitive reporter cell line, DR-EcoScreen cells, and in vivo mouse liver cytochrome P450-1A induction by propanil, diuron and linuron. *Chemosphere* 2008 ; 74 : 155-65.
- Talbot AR, Shiaw MH, Huang JS, *et al.* Acute poisoning with a glyphosate-surfactant herbicide (« Roundup »): a review of 93 cases. *Hum Exp Toxicol* 1991 ; 10 : 1-8.

Tarazona JV, Court-Marques D, Tiramani M, *et al.* Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC. *Arch Toxicol* 2017 ; 91 : 2723-43.

Tarone RE. On the International Agency for Research on Cancer classification of glyphosate as a probable human carcinogen. *Eur J Cancer Prev* 2018 ; 27 : 82-7. ●●●●

Thongprakaisang S, Thiantanawat A, Rangkadilok N, *et al.* Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 59 : 129-36.

Tong M, Gao W, Jiao W, *et al.* Uptake, translocation, metabolism, and distribution of glyphosate in nontarget tea plant (*Camellia sinensis* L.). *J Agric Food Chem* 2017 ; 65 : 7638-46.

Townsend M, Peck C, Meng W, *et al.* Evaluation of various glyphosate concentrations on DNA damage in human Raji cells and its impact on cytotoxicity. *Regul Toxicol Pharmacol* 2017 ; 85 : 79-85.

van Bruggen AHC, He MM, Shin K, *et al.* Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Sci Total Environ* 2018 ; 616-617 : 255-68.

Vandentorren S, Guldner L. *Dosage des biomarqueurs en maternité dans le cadre de l'enquête pilote Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance), octobre 2007*. Saint-Maurice, France : Institut de veille sanitaire, 2013 : 47 p [consulté le 13/01/20 : <https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/182199/2306221>].

Vandentorren S, Bois C, Pirus C, *et al.* Rationales, design and recruitment for the Elfe longitudinal study. *BMC Pediatr* 2009 ; 9 : 58.

Vanlaeys A, Dubuisson F, Seralini G-E, *et al.* Formulants of glyphosate-based herbicides have more deleterious impact than glyphosate on TM4 Sertoli cells. *Toxicol In Vitro* 2018 ; 52 : 14-22.

von Ehrenstein OS, Ling C, Cui X, *et al.* Prenatal and infant exposure to ambient pesticides and autism spectrum disorder in children: population based case-control study. *BMJ* 2019 ; 364 : 1962.

Walsh LP, McCormick C, Martin C, *et al.* Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ Health Perspect* 2000 ; 108 : 769-76.

Wang S, Liu B, Yuan D, *et al.* A simple method for the determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in seawater matrix with high performance liquid chromatography and fluorescence detection. *Talanta* 2016 ; 161 : 700-6.

Wan N, Lin G. Parkinson's disease and pesticides exposure: new findings from a comprehensive study in Nebraska, USA. *J Rural Health* 2016 ; 32 : 303-13.

Weisskopf MG, Moisan F, Tzourio C, *et al.* Pesticide exposure and depression among agricultural workers in France. *Am J Epidemiol* 2013 ; 178 : 1051-8.

Wester RC, Melendres J, Sarason R, *et al.* Glyphosate skin binding, absorption, residual tissue distribution, and skin decontamination. *Fundam Appl Toxicol* 1991 ; 16 : 725-32.

Wood E, Dunster J, Watson P, *et al.* *Glyphosate technical: dietary combined chronic toxicity/carcinogenicity study in the rat.* Harlan Laboratories Limited, Shardlow Business Park, Shardlow, Derbyshire DE72 2GD, UK. Study No. 2060-012. April, 23, 2009. MRID 49957404. [Unpublished], 2009a. •

Wood E, Dunster J, Watson P, *et al.* *Wood, glyphosate technical: dietary carcinogenicity study in the mouse.* Harlan Laboratories Limited, Shardlow Business Park, Shardlow, Derbyshire DE72 2GD, UK. Study No. 2060-011. MRID 49957402. [unpublished], 2009b. •

Woźniak E, Sicińska P, Michałowicz J, *et al.* The mechanism of DNA damage induced by Roundup 360 PLUS, glyphosate and AMPA in human peripheral blood mononuclear cells - genotoxic risk assessment. *Food Chem Toxicol* 2018 ; 120 : 510-22.

Xie L, Thrippleton K, Irwin MA, *et al.* Evaluation of estrogenic activities of aquatic herbicides and surfactants using an rainbow trout vitellogenin assay. *Toxicol Sci* 2005 ; 87 : 391-8.

Yoshioka N, Asano M, Kuse A, *et al.* Rapid determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos, and their major metabolites in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography. *J Chromatogr A* 2011 ; 1218 : 3675-80.

Yu N, Tong Y, Zhang D, *et al.* Circular RNA expression profiles in hippocampus from mice with perinatal glyphosate exposure. *Biochem Biophys Res Commun* 2018 ; 501 : 838-45.

Zhang L, Rana I, Shaffer RM, *et al.* Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis and supporting evidence. *Mutat Res* 2019 ; 781 : 186-206.

Zhang S, Xu J, Kuang X, *et al.* Biological impacts of glyphosate on morphology, embryo biomechanics and larval behavior in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere* 2017 ; 181 : 270-80.

Zoller O, Rhyn P, Zarn JA, *et al.* Urine glyphosate level as a quantitative biomarker of oral exposure. *Int J Hyg Environ Health* 2020 ; 228 : 113526.

Zouaoui K, Dulaurent S, Gaulier JM, *et al.* Determination of glyphosate and AMPA in blood and urine from humans: about 13 cases of acute intoxication. *Forensic Sci Int* 2013 ; 226 : e20-5.