Construction de valeurs toxicologiques de référence adaptées à la prise en compte des mélanges en évaluation des risques sanitaires : méthodes existantes et applications récentes

Kevin Fournier, Philippe Glorennec, Nathalie Bonvallot

▶ **To cite this version:**

Kevin Fournier, Philippe Glorennec, Nathalie Bonvallot. Construction de valeurs toxicologiques de référence adaptées à la prise en compte des mélanges en évaluation des risques sanitaires : méthodes existantes et applications récentes. Environnement, Risques & Santé, 2014, 13 (3), pp.203-221. 10.1684/ers.2014.0696 . hal-01118601

HAL Id: hal-01118601
https://univ-rennes.hal.science/hal-01118601

Submitted on 28 Nov 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Construction de valeurs toxicologiques de référence adaptées à la prise en compte des mélanges en évaluation des risques sanitaires : méthodes existantes et applications récentes

Kevin Fournier
Philippe Glorennec
Nathalie Bonvallot

EHESP
Inserm U 1085
Avenue du Professeur
Léon Bernard
CS 74312
35043 Rennes cedex
France
<kevin.fournier@ehesp.fr>
<philippe.glorennec@ehesp.fr>
<nathalie.bonvallot@ehesp.fr>

Tirés à part :
K. Fournier

Article reçu le 25 octobre 2013, accepté le 16 janvier 2014

Résumé. L'homme est exposé dans son environnement à de multiples molécules. Afin d'estimer les risques liés à ces expositions, plusieurs approches d'évaluation quantitative des risques sanitaires ont été développées, de la somme des quotients de danger aux facteurs d'équivalence toxique (TEF, *Toxic Equivalent factors*) en passant par les « *Point of Departure Index* » (PODI). Leurs principes reposent sur l'hypothèse d'additivité des doses ou des effets. La finalité de ces démarches est d'apporter des éléments d'aide à la décision dans un contexte d'incertitude. Elles permettent également de souligner le manque de données adaptées, en particulier en termes de connaissances sur la toxicité des molécules. L'objectif de cet article est de proposer un historique de ces méthodes et de présenter, au travers des exemples de la littérature, leurs applications actuelles. Si peu de recommandations institutionnelles permettent de prendre en compte les mélanges dans les démarches d'évaluation des risques cumulés, de nombreuses approches ont été publiées ces dernières années. Si le développement de TEF nécessite des connaissances précises sur les mécanismes d'actions toxiques, d'autres approches moins exigeantes en termes de connaissances ont été développées et peuvent d'ores et déjà être utilisées. C'est le cas des facteurs de puissance relative pour les pyréthrinoïdes, les organophosphorés, les phtalates et des fongicides ; ou du PODI pour différents antiandrogènes.

Mots clés : évaluation des risques ; mélanges ; polluants environnementaux ; valeurs toxicologiques de référence.

Abstract

Derivation of toxicological reference values for taking mixtures into account in health risk assessment: Existing methods and recent applications

Human beings are exposed through their environment to numerous chemicals. Several approaches to cumulative risk assessment, including the sum of hazard quotients, toxic equivalent factors (TEF), and the point of departure index (PODI), have been developed to estimate the risks due to these exposures. Their principles are based on the assumption of effect or dose additivity, and their main purpose is to provide tools to help decision-makers in a context where uncertainty predominates. They also highlight the lack of adequate data, especially for toxicity data and dose-response relations. The objective of this article is to propose a brief history of these approaches and to describe their current applications through examples from the literature. While few institutional recommendations allow mixtures to be taken into account in cumulative risk assessment approaches, many approaches have been published in recent years. Although the development of TEFs requires precise knowledge about the toxic mechanisms of action, other approaches, less

Pour citer cet article : Fournier K, Glorennec P, Bonvallot N. Construction de valeurs toxicologiques de référence adaptées à la prise en compte des mélanges en évaluation des risques sanitaires : méthodes existantes et applications récentes. *Environ Risque Sante* 2014 ; 13 : 203-21. doi : 10.1684/ers.2014.0696

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

doi: 10.1684/ers.2014.0696

stringent in term of knowledge, have been developed and are already usable. This is the case for relative potency factors for pyrethroids, organophosphates, phthalates, and fungicides; or PODI for certain anti-androgens.

Key words: *environmental pollutants; mixtures; risk assessment; toxicological reference values.*

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

L'évaluation quantitative des risques sanitaires (EQRS)[1] est une méthode permettant d'estimer ou comparer, par le calcul lorsque cela est possible, les risques pour la santé auxquels est soumise une population exposée à une pollution. L'EQRS a été proposée pour la première fois en 1983 par le *National Research Council* (NRC) aux États-Unis. Elle est fondée sur l'utilisation de faits scientifiques pour définir les effets sur la santé d'une exposition d'individus ou de populations à des matériaux ou à des situations dangereuses, dans un contexte d'incertitude [1]. Son principe repose sur la combinaison de données d'expositions (estimées à partir de contaminations environnementales) et d'indicateurs toxicologiques (estimés à partir des relations dose-réponse).

Dès lors que les données épidémiologiques sont insuffisantes pour établir des relations causales et calculer des risques attribuables directement chez l'homme, cette méthode permet de répondre aux pouvoirs publics à la question des risques sanitaires liés à la présence de contaminants environnementaux (souvent présents à faibles doses). La finalité d'une évaluation des risques sanitaires est d'apporter par une démarche transparente des éléments d'aide à la décision dans un contexte d'incertitude, en hiérarchisant des options de gestion ou en estimant, avec plus ou moins d'incertitude, les conséquences sanitaires potentielles d'une situation en termes, là aussi, de plausibilité et gravité des effets, de nombre de personnes exposées, de possibilité ou probabilité de survenue des effets [2].

Cette démarche permet également de souligner le manque de données adaptées, que ce soit tant sur la toxicité des agents dangereux que sur les expositions de la population, et permet ainsi de formuler des recommandations de recherche.

Elle comporte quatre étapes :

1. Identification du danger : grâce aux données de la littérature et en fonction du contexte, on identifie à la fois les agents dangereux concernés et leur potentiel toxique.
2. Identification des relations dose-réponse : cette étape consiste à rechercher les valeurs toxicologiques de référence (VTR) disponibles pour chacune des substances, pour chaque condition d'exposition pertinente. En outre, on détermine si l'effet est à seuil (effet déterministe où la gravité est proportionnelle à la dose) ou sans seuil (effet probabiliste où c'est la probabilité de survenue de l'effet qui est proportionnel à la dose).
3. Estimation de l'exposition : on identifie le ou les milieu(x) contaminé(s), voies d'exposition, les durées et niveaux d'exposition. Cette étape est souvent la plus difficile à renseigner car elle nécessite de connaître les habitudes de la population (habitudes alimentaires, budgets espace-temps, etc.).
4. Enfin, la dernière étape est la caractérisation du risque qui correspond à la mise en relation des deux étapes précédentes, par le calcul des indicateurs de risque, suivi d'une estimation des incertitudes.

Les résultats se présentent sous différentes formes. Pour les substances ayant des effets sans seuil, c'est-à-dire des substances ayant des effets néfastes sur l'organisme même à très faible dose, comme les substances génotoxiques cancérogènes, les résultats de l'EQRS se présentent sous forme d'excès de risque individuel (probabilité d'apparition de l'effet suite à l'exposition à l'agent dangereux). Cette probabilité est calculée en faisant le produit de l'exposition estimée par la VTR. Dans le cas de substances ayant des effets à seuil, c'est-à-dire que l'effet sanitaire n'apparaît qu'à partir d'une certaine dose, le risque s'exprime en quotient de danger. Ce quotient est calculé en faisant le rapport entre l'exposition estimée et la VTR.

Actuellement en France, les démarches d'EQRS réalisées en pratique ne prennent généralement en compte que des substances prises individuellement, c'est-à-dire qu'un quotient de danger et/ou un excès de risque individuel est fourni pour chaque substance étudiée. Si l'évaluation des risques sanitaires liés à des mélanges peut être courante pour certaines familles de substances, comme les dioxines ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (voir ci-après), il ne s'agit pas d'une approche systématique, alors même que nous sommes quotidiennement exposés à de nombreux polluants environnementaux, de nature et de famille chimique différentes, mais qui peuvent avoir des effets ou des mécanismes d'actions communs. C'est par exemple le cas de certains perturbateurs endocriniens (des phtalates, des fongicides…) qui peuvent agir sur la synthèse de la testostérone [3, 4]. Dans les guides méthodologiques de l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) [5, 6], seules quelques recommandations sont proposées, en particulier l'addition des quotients de dangers.

Pourtant, depuis la publication de l'ouvrage du NRC en 1983 [1], les méthodes d'EQRS se sont beaucoup

[1] Le lecteur trouvera en fin d'article un tableau récapitulatif de tous les sigles utilisés.

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

développées et améliorées. La problématique des expositions à des mélanges plus ou moins complexes est à présent largement soulevée par l'ensemble des institutions internationales et nationales, comme en témoignent les nombreux travaux de réflexion depuis ces dix dernières années et toujours en cours [7-9]. Pour évaluer les risques liés aux mélanges de substances, des méthodes d'évaluation des risques sanitaires cumulés (ou « *Cumulative Risk Assessment* » [CRA]) ont été proposées. Leurs applications sont nombreuses et évolutives. Ainsi, l'objectif de cet article est de proposer un historique des méthodes CRA existantes et de présenter, au travers des exemples de la littérature, leurs applications actuelles.

Historique de la mise en œuvre des méthodes CRA

Les démarches de CRA existantes sont toutes fondées sur la notion d'additivité des doses initialement développée en 1926 par Loewe et Muischnek [10]. L'hypothèse est que les substances agissent de la même manière (d'un point de vue mécanistique), de sorte que la même réponse peut être obtenue en remplaçant un composé, totalement ou en partie, par un autre. Chaque composé d'un mélange est supposé contribuer à l'effet global observé en agissant en proportion de sa concentration. En outre, la notion d'additivité des doses implique que la réponse combinée des substances en mélange est plus grande que celle de chaque substance prise individuellement [11, 12]. Cette notion d'additivité ne prend pas en compte la possibilité d'interactions toxicologiques. Or, d'un point de vue biologique, des interactions de plusieurs ordres pourraient être attendues [13]. Elles peuvent être de type toxicocinétique, si par exemple plusieurs substances suivent la même voie métabolique (exemple de l'inhibition de la métabolisation du méthanol par le 4-méthylpyrazole [14], ou de type toxicodynamique, si la cible moléculaire est identique (exemple de l'augmentation synergique de la toxicité hépatique du chlordécone en présence de tétrachlorure de carbone [15]. Ces interactions pourraient conduire à des phénomènes d'antagonisme ou de potentialisation. Ceux-ci sont cependant *a priori* peu probables en santé environnementale. En effet, dans la plupart des cas documentés, ils reposent sur des mécanismes de saturation des systèmes biologiques. Or, ceux-ci ne sont pas, ou sont peu, attendus lorsqu'on s'intéresse à l'exposition à des faibles doses de substances [16, 17][2]. Ainsi, aujourd'hui, dans le cas des CRA la convention est de retenir l'hypothèse d'additivité (des doses ou des effets).

[2] Sont exclues *de facto* les coexpositions impliquant les fortes doses (expositions médicamenteuses…).

Historiquement, une des premières méthodes à avoir été décrite est la *Toxic Unit Summation* (TUS) [18] qui est l'application directe du concept d'additivité des doses pour l'évaluation du risque environnemental. Sprague a suggéré que la force d'un polluant dans un système aquatique pouvait être exprimée comme une fraction de sa concentration létale chez le poisson. Ainsi, dans un mélange, les TU (*toxic units)* de chaque polluant pourraient être calculées puis additionnées afin d'estimer la toxicité globale du mélange. Ces TU représentent le rapport entre la concentration d'exposition et la concentration efficace d'une substance pour un effet donné (ici, la mortalité chez le poisson), comme indiqué dans l'équation 1.

$$\mathrm{TUS} = \sum_{i=1}^{n} TU_i = \sum_{i=1}^{n} \frac{\exp_i}{EC_i} \qquad (1)$$

avec :
- TUS : *Toxic Unit Summation* ;
- TU : *Toxic Units* ;
- exp : exposition ;
- EC : concentration efficace.

EC est traditionnellement l'EC_{50}, c'est-à-dire la dose responsable de 50 % de l'effet observé. L'indicateur TUS doit être inférieur à 1 pour que les concentrations du mélange en toxiques n'engendrent pas l'effet pris en compte dans l'évaluation.

Dans son ouvrage de 1983, l'Académie des sciences américaine émet des recommandations afin d'aider les organismes fédéraux qui font de l'évaluation de risques, à présenter « clairement et de manière convaincante », la base scientifique de leur décision réglementaire. Elle y souligne notamment le caractère incomplet des données dans l'évaluation des risques [1]. Pour répondre à ces recommandations, l'US EPA a travaillé dès janvier 1984 sur des lignes directrices à mettre en place dans le cadre de l'évaluation des risques pour la santé liés à l'exposition à des mélanges de produits chimiques. Ces lignes directrices seront publiées deux ans plus tard [12]. Dans ce document, l'US EPA y a développé la méthode du « *Hazard Index* » (HI) sur les mêmes bases que le TUS (une approche au cas par cas). Cette approche est également fondée sur l'additivité des doses. Elle consiste à additionner les quotients de danger de chaque substance du mélange selon l'équation 2 :

$$HI = \sum_{i=1}^{n} QD_i = \sum_{i=1}^{n} \frac{\exp_i}{VTR_i} \qquad (2)$$

avec :
- HI : *Hazard Index* ; QD : quotient de danger ;
- exp : exposition ;
- VTR : valeur toxicologique de référence.

Si le HI est supérieur à 1, l'exposition totale aux composés du mélange dépasse le niveau considéré comme acceptable.

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

L'avantage de cette démarche est qu'elle est transparente et facile à utiliser. L'inconvénient est qu'elle souffre d'importantes limites méthodologiques liées à l'hétérogénéité de la construction des indicateurs de toxicité. En effet, ces indicateurs ne sont pas forcément construits de la même manière, notamment car ils ne sont pas nécessairement fondés sur les mêmes types d'effets (les différentes substances n'ont pas forcément les mêmes effets critiques documentés). Cette démarche est donc avant tout un moyen de gestion à n'utiliser que quand les informations concernant les substances à évaluer sont parcellaires. C'est une démarche qui d'ailleurs est souvent utilisée dans la réglementation française relative aux évaluations des risques dans les études d'impacts, puisque recommandée dans le guide de l'Ineris à destination des évaluateurs de risques [5, 6].

À la même époque (fin 1970, début des années 1980), de nombreux chercheurs de différents pays se sont intéressés à l'évaluation des risques des dioxines (polychlorodibenzodioxines, PCDD) et furanes (polychlorodibenzofuranes, PCDF). Compte tenu de l'existence de nombreux congénères et donc de contaminations environnementales complexes et hétérogènes d'un endroit à l'autre, le concept de facteurs d'équivalence toxique (TEF, *Toxic Equivalency Factor*) a été introduit pour simplifier la démarche d'évaluation du risque. Par la suite, de nombreux pays ont publié des TEF pour ces molécules (la Suisse en 1982, le Danemark en 1984, l'Ontario en 1985, l'US EPA en 1987, etc.) [19]. Cette démarche consiste à appliquer, pour chaque molécule d'un mélange, un facteur de pondération proportionnel à sa toxicité au regard du toxique de « référence » (souvent celui qui est le plus documenté). Cette méthode est fondée sur les données mécanistiques disponibles des molécules d'intérêts. Dans le cas des dioxines, l'un des principaux mécanismes engendrant une réponse toxique est la liaison au récepteur cytosolique arylhydrocarbone AhR [20, 21]. Cette liaison expliquerait la majeure partie des effets qui sont induits par l'exposition aux dioxines (effets immunitaires, cancérigènes, reprotoxiques…). En effet, le complexe ligand/AhR migre du cytoplasme des cellules au noyau où il interagit avec certaines séquences de l'ADN (les éléments de réponse aux dioxines) responsables de la transcription des enzymes détoxifiantes de phase 1 et 2, dont les cytochromes P450 [22] (responsables de la production d'espèces réactives de l'oxygène) et des époxydases, responsables de la formation d'époxydes qui sont, tout comme les espèces réactives de l'oxygène, des métabolites cancérogènes très réactifs [23] (*figure 1*, adaptée de King-Heiden *et al.* [24]).

Les TEF sont construits en faisant le rapport, pour un mécanisme d'action déterminé, entre l'indicateur de toxicité du toxique de référence et celui d'un autre toxique présent dans le mélange, selon l'équation 3. Ces indicateurs sont ensuite utilisés pour pondérer la valeur de l'exposition de chaque polluant avant leur addition en une quantité équivalente totale (TEQ, *Total Equivalent Quantity*) (équation 4). On obtient une concentration d'exposition en toxique de « référence ». Ainsi, on peut calculer un QD en faisant le rapport entre la concentration en toxique de référence obtenue et la VTR de ce dernier (équation 5).

$$TEF_i = \frac{\text{Indicateur de toxicité}_{TR}}{\text{Indicateur de toxicité}_i} \quad (3)$$

$$\text{TEQ} = \sum_{i=1}^{n} (\exp_i \times \text{TEF}_i) \quad (4)$$

$$\text{QD} = \frac{\sum_{i=1}^{n} (\exp_i \times \text{TEF}_i)}{\text{VTR}_{\text{TR}}} = \frac{\text{TEQ}}{\text{VTR}_{\text{TR}}} \quad (5)$$

avec :
– TR, le toxique de référence et i le composé du mélange ;
– exp_i, l'exposition du composé i et TEFi son facteur d'équivalence toxique ;
– TEQ, la quantité toxique équivalente du mélange ;
– $VTR_{TR,}$ la VTR du toxique de référence.

La première utilisation de la démarche de l'équivalence toxique pour une évaluation des risques a été décrite en 1986 par Eadon et ses collaborateurs dans le cas d'une évaluation des risques sanitaires liés à une exposition à un mélange de PCDD, PCDF et PCB, retrouvés dans la suie d'un incendie de transformateur à New York [25]. Bien que le terme de TEF n'ait pas été évoqué, les auteurs ont utilisé la dose létale 50 (DL_{50}) pour évaluer la puissance relative des composés du mélange à partir d'études *in vivo* réalisées chez le cochon d'Inde. De nombreux TEF ont ensuite été proposés dans la littérature dans les années 1980, avec comme composé de référence la 2,3,7,8-TCDD, dioxine la plus toxique et la plus étudiée à l'époque. Différents indicateurs de toxicité étaient utilisés, de l'interpolation linéaire des courbes log (doses)-réponses réalisée par des techniques de rééchantillonnage (*bootstrap*) [26] aux ratios des DL_{50}, des doses efficaces responsables de 50 % de l'effet (ED_{50}), des LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Levels*) ou NOAEL (*No Observed Adverse Effect Levels*) issus des études expérimentales *in vivo*, à l'utilisation de la constante d'affinité au récepteur AhR issue d'études *in vitro*, conduisant à des résultats parfois très différents. L'Organisation du traité de l'Atlantique Nord (Otan), en 1989, a été la première institution à publier des TEF pour les PCDD et PCDF à une échelle internationale (on parle souvent des I-TEF de l'Otan). Lors du développement initial des TEF, de nombreux chercheurs examinèrent aussi les relations structure-activités des polychlorobiphényles (PCB), dont certains, dits PCB *dioxin-like*, furent ajoutés à la liste dès 1991 [27]. Compte tenu de l'évaluation des connaissances toxicologiques relatives aux PCDD, PCDF et PCB, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) conjointement avec le Programme international sur les

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

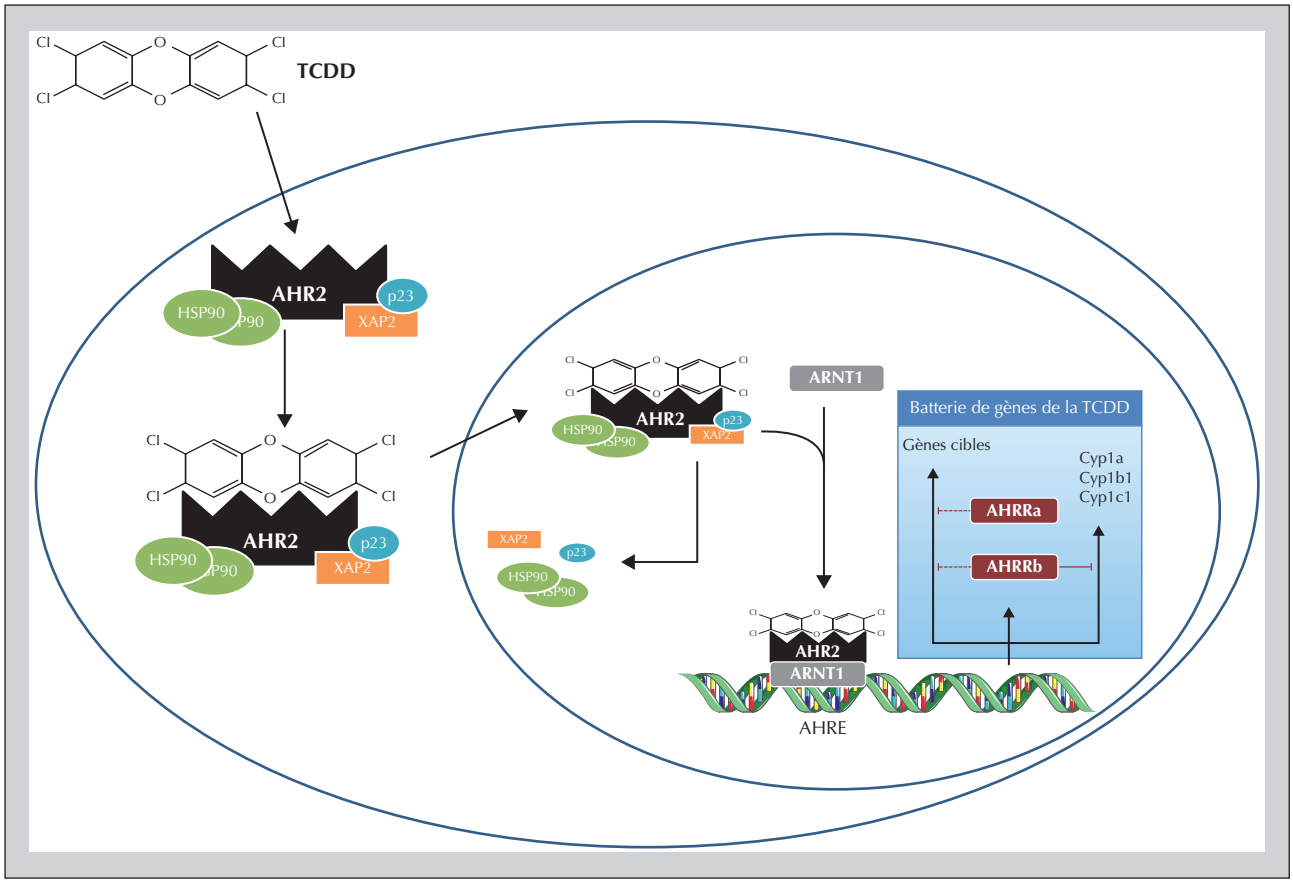

Figure 1. Un des mécanismes d'action des dioxines : activation du récepteur AhR et cascade de signalisation (d'après King-Heiden *et al.* [24]).

Figure 1. One of the mechanisms of action of dioxins activation of AhR receptor and signalling cascade (adapted from King-Heiden *et al.* [24]).

substances chimiques (IPCS), adoptèrent une liste de TEF harmonisés en 1994, nommée WHO_{94}-TEF. D'autres consultations de groupes d'experts conduisirent à l'extension de ces TEF pour 7 PCDD, 10 PCDF et 12 PCB en 1998 (WHO_{98}-TEF) et à la mise à jour et l'homogénéisation de ceux-ci en 2005 (WHO_{05}-TEF) [28, 29]. La dernière version de ces TEF, présentée dans le *tableau 1*, et largement utilisée en évaluation des risques sanitaires à l'heure actuelle, est considérée comme plus solide compte tenu d'une meilleure comparabilité des données utilisées pour le calcul. Pour cette mise à jour, les critères d'inclusion des molécules retenues comprenaient une structure chimique proche de celles des PCDD et PCDF, une liaison à l'AhR, une réponse toxique médiée principalement par cette liaison, et une persistance et accumulation dans la chaîne alimentaire. Une seule base de données toxicologique a été retenue [30] en privilégiant les données *in vivo*.

Toujours sur la base de l'additivité des doses et de l'équivalence toxique, Albert et son équipe ont introduit la notion de facteur de puissance relative (appelée plus tard *Relative Potency Factor* ou RPF) dès 1983 [31]. Dans leur étude, ils ont comparé le potentiel cancérogène d'émissions diesels de différents véhicules à partir de la comparaison des excès de risque unitaires calculés par exploitation de relations dose-réponse provenant d'études de cancérogenèse cutanée chez la souris exposée 2 ans. Ici, on ne parle plus de TEF mais plus généralement de facteurs de puissance relative car on n'associe pas l'effet observé (l'apparition d'une tumeur) à un seul mécanisme moléculaire précis, comme cela était le cas avec la liaison au récepteur AhR et les dioxines. La même approche a été utilisée par l'US EPA en 1993 pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). La réponse retenue pour le calcul des RPF était l'apparition de cancer de la peau à partir d'études où des souris ont été exposées par voie cutanée pendant 2 ans [32]. Les facteurs de puissance relative de 7 HAP avaient ainsi été déterminés et sont présentés dans le *tableau 2* (à noter que ces RPF ont été étendus et mis à jour pour 24 HAP

Tableau 1. Résumé des valeurs de TEF (*Toxic Equivalency Factor*) adoptées par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 2005 et fondées à la fois sur des données *in vivo* ou *in vitro* à partir de la base de données toxicologiques de Haws *et al.* [30] (valeurs les plus récentes).

Table 1. Summary of TEF (Toxic Equivalency Factor) values adopted by WHO in 2005 and based on in vivo *or* in vitro *data from the toxicological database of Haws* et al. *[30] (most recent values).*

Composé	WHO 2005 TEF
Polycholorodibenzo-p-dioxines (PCDD)	
2,3,7,8-TCDD (2,3,7,8,-tétrachlorodibenzo-para-dioxine)	1
1,2,3,7,8-PeCDD (1,2,3,7,8-pentachlorodibenzo-para-dioxine)	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD (1,2,3,4,7,8-héxachlorodibenzo-para-dioxine)	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD (1,2,3,6,7,8-héxachlorodibenzo-para-dioxine)	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD (1,2,3,7,8,9-héxachlorodibenzo-para-dioxine)	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD (heoptachlorodibenzo-para-dioxine)	0,01
OCDD (octachlorodibenzodioxine)	0,0003
Polychlorodibenzofuranes (PCDF)	
2,3,7,8-TCDF (2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-para-furane)	0,1
1,2,3,7,8-PeCDF (1,2,3,7,8-pentachlorodibenzo-para-furane)	0,03
2,3,4,7,8-PeCDF (2,3,4,7,8-pentachlorodibenzo-para-furane)	0,3
1,2,3,4,7,8-HxCDF (1,2,3,4,7,8-héxachlorodibenzo-para-furane)	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF (1,2,3,6,7,8-héxachlorodibenzo-para-furane)	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF (1,2,3,7,8,9-héxachlorodibenzo-para-furane)	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF (2,3,4,6,7,8-héxachlorodibenzo-para-furane)	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF (1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodibenzo-para-furane)	0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF (1,2,3,4,7,8,9-heptachlorodibenzo-para-furane)	0,01
OCDF (octachlorodibenzofurane)	0,0003
Polychlorobiphényles (PCB)	
PCB-77	0,0001
PCB-81	0,0003
PCB-126	0,1
PCB-169	0,03
PCB-105	0,0003
PCB-114	0,0003
PCB-118	0,0003
PCB-123	0,0003
PCB-156	0,0003
PCB-157	0,0003
PCB-167	0,0003
PCB-189	0,0003

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

dans un *draft* de l'US EPA mis en ligne en 2010 mais aucun document définitif n'a à ce jour été publié).

Si le RPF est une méthode plus généralisable que le TEF (les effets néfastes des substances sont toujours mieux renseignés que les mécanismes d'action moléculaires), la formule reste identique (équation 6).

$$RPF_i = \frac{\text{Indicateur de toxicité}_{TR}}{\text{Indicateur de toxicité}_i} \quad (6)$$

avec :

– TR, le toxique de référence et i le composé du mélange ;

– RPF, le *Relative Potency Factor*.

Puis comme pour le TEF, les produits de la concentration et du RPF obtenus pour chaque substance du mélange sont additionnés pour obtenir une concentration en toxique de référence, qui sera ensuite divisée par la VTR de ce toxique afin d'obtenir le quotient de danger.

En 2000, la section « Évaluations des risques » de l'US EPA publie un document sur la prise en compte des risques liés aux mélanges de produits chimiques où est décrite, entre autre et pour la première fois par une agence réglementaire, cette démarche RPF ainsi que ses conditions d'utilisation et le choix du toxique de référence [33]. L'agence insiste entre autre sur la qualité

Tableau 2. Valeurs de RPF (*Relative Potency Factor*) proposées pour 7 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par l'*United States Environmental Protection Agency* (US EPA) en 1993 [32], fondées sur des études *in vivo* de cancérogenèse cutanée chez la souris.

Table 2. RPF (Relative Potency Factor) values proposed for 7 PAHs by the US EPA in 1993 [32], based on in vivo *studies of cutaneous carcinogenesis in mice.*

Composé	RPF
Benzo[a]pyrène	1
Dibenzo[a,h]anthracène	1
Benzo[a]anthracène	0,1
Benzo[b]fluoranthène	0,1
Indeno[1,2,3-cd]pyrène	0,1
Benzo[k]fluoranthène	0,01
Chrysène	0,001

des données des relations dose-réponse nécessaires et sur la disponibilité des profils toxicologiques pour un même effet. De plus, l'US EPA considère que la démarche RPF ne devrait être utilisée qu'après avoir recueilli un minimum d'informations telles que : l'identification d'un mode d'action commun aux substances en mélanges (mode d'action défini comme un continuum décrivant les événements clés de l'interaction cellule-toxique jusqu'à l'apparition de l'effet ; une évaluation quantitative de la relation dose-réponse pour le composé de référence ; et des données scientifiques pertinentes qui permettent aux autres substances d'être significativement comparées au toxique de référence. L'agence souligne néanmoins que les données disponibles peuvent être moins nombreuses et moins précises pour le calcul de TEF). En outre, l'US EPA considère que la démarche RPF repose principalement sur le jugement et l'interprétation de données scientifiques et donc que la pluridisciplinarité dans cette expertise est nécessaire.

La démarche fut appliquée par l'US EPA au début des années 2000 [34] à la suite de la promulgation de la loi sur la protection de la qualité des aliments [35] qui imposa des changements majeurs dans la réglementation des pesticides, notamment pour l'évaluation des risques et la prise en compte de l'exposition cumulée. Dans ce cadre, les travaux de l'US EPA concernaient les insecticides organophosphorés et carbamates, sur la base de l'inhibition de l'acétylcholinestérase, considérée comme événement clé de leur mécanisme de toxicité. Vingt-quatre pesticides organophosphorés ont fait l'objet de cette évaluation [36, 37]. Dans l'analyse des relations dose-réponse, les auteurs ont émis plusieurs principes clés tels que :
– la plausibilité de l'additivité des doses ;
– la nécessité d'avoir un mécanisme d'action commun pour les substances prises en compte ;
– la nécessité que les courbes dose-réponse des différents polluants d'un groupe soient parallèles (existence d'une constante de proportionnalité entre les courbes).

Dans cette étude pilote, la réponse retenue pour ces 24 pesticides était l'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) dans le système nerveux central et périphérique, le cerveau, les globules rouges et le plasma. Les auteurs ont recherché les études sources et en ont extrait les informations concernant les animaux testés (espèces, sexe, souche et âge) et les méthodes utilisées (mesures de l'inhibition de l'AChE, moment de la mesure, compartiment mesuré). Les auteurs ont particulièrement privilégié les études subchroniques (90 jours) et chroniques (2 ans) chez le rat exposé par voie orale, subchroniques (90 jours) chez le rat exposé par inhalation et les études de cancérogénicité chez le rat exposé par voie orale. Tous compartiments confondus, 96 études d'exposition par voie orale et 24 études pour les autres voies (cutanée ou respiratoire) ont été examinées. Dans le cas de l'inhibition de l'acétylcholinestérase dans le plasma après une exposition par voie orale, des informations étaient disponibles pour tous les organophosphorés chez le mâle et pour 23 sur 24 chez la femelle. C'est donc sur ce compartiment que les auteurs se sont focalisés. Afin de calculer les RPF, les auteurs ont choisi de se baser sur le calcul de l'ED_{50} (dose à laquelle on observe une diminution de 50 % de la réponse maximale (activité de l'acétylcholine estérase) pour chaque étude et pour les deux sexes. Quand l'ED_{50} n'était pas calculable, les auteurs ont utilisé le NOAEL de l'étude source (dose maximale testée dans l'étude sans effets néfastes observés, c'est-à-dire sans inhibition statistiquement significative de l'acétylcholine estérase).

Ces travaux ont été poursuivis et mis à jour pour 33 organophosphorés par le Bureau du programme pesticide de l'US EPA. La réponse d'inhibition de l'acétylcholine estérase dans le cerveau a été exploitée à partir des études chez le rat femelle exposé par voie orale sur 21 jours ou plus. Les RPF ont été calculés sur la base de la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % des *benchmark doses* équivalant à une réponse de 10 % ($BMDL_{10}$) pour chaque composé (diminution de 10 % de l'activité de l'enzyme). Pour l'évaluation du risque, c'est le métamidophos qui a été considéré comme le toxique de référence. Le *tableau 3* présente les différents RPF calculés [38].

On constate au travers de ces exemples que les démarches TEF et RPF sont aujourd'hui peu différenciées. De manière générale, le RPF s'utilise quand on évalue les puissances de substances d'un groupe ayant un mode d'action commun (plus généralement un effet commun), sans forcément qu'il soit relié à un mécanisme d'action moléculaire spécifique, ou sans que les mécanismes sous-jacents soient connus (effets physiologiques, tels qu'apparition de cancers du poumon comme l'avait décrit Albert) et le TEF s'utilise quand on évalue les puissances de substances dont l'effet peut être médié par un

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

Tableau 3. Valeurs de RPF (*Relative Potency Factor*) proposées en 2006 par l'*United States Environmental Protection Agency* (US EPA) pour 33 insecticides organophosphorés, fondées sur la comparaison d'une diminution de 10 % de l'acétylcholinestérase dans des études *in vivo* subchroniques ou chroniques par voie orale chez le rat femelle (adapté de US EPA, 2006 [38]).

Table 3. RPF (Relative Potency Factor) values proposed for 33 organophosphorous insecticides by the US EPA in 2006, based on the comparison of a 10% reduction of acetylcholinesterase in in vivo *studies of subchronic or chronic oral ingestion in female rats (adapted from the US EPA, 2006 [38]).*

Composé	RPF
Dicrotophos	1,91
Disulfoton	1,26
Methamidophos	1,00
Omethoate	0,93
Oxydéméthon-méthyle	0,86
Terbufos	0,85
Mevinphos	0,76
Phorate	0,39
Fenthion	0,33
Diméthoate	0,32
Méthidathion	0,32
Phostebupirim	0,22
Chlorethoxyfos	0,13
Méthyl-parathion	0,12
Azinphos-méthyle	0,10
Acéphate	0,08
Naled	0,08
Fosthiazate	0,07
Chlopyrifos	0,06
Ethoprop	0,06
Fenamiphos	0,04
Pirimiphos-méthyle	0,04
DDVP	0,03
Phosmet	0,02
Tribufos	0,02
Diazinon	0,01
Phosalone	0,01
Chlorpyrifos-méthyle	0,005
Profenofos	0,004
Trichlorfon	0,003
Bensulide	0,003
Tétrachlorvinphos	0,001
Malathion	0,0003

mécanisme d'action principal, commun à toutes les substances du mélange, et bien identifié (exemple de la liaison au récepteur AhR des dioxines, furanes et PCB décrit par Safe en 1985 [21]). L'US EPA avait d'ailleurs fait l'exercice de distinction entre ces deux méthodes où la démarche TEF avait été définie comme une application spécifique du RPF [33].

Plus récemment, avec le développement de ces méthodes d'évaluations des risques, les plus anciennes se sont vues améliorées afin de mieux tenir compte des données disponibles. Ainsi, sur les mêmes bases méthodologiques que le HI, le *Point Of Departure Index* (PODI) a été proposé pour éviter en particulier les inconvénients du HI qui amenait à comparer des ratios souvent difficilement comparables [39]. En effet, dans le cas du PODI, l'exposition à un polluant n'est plus rapportée à la VTR (qui peut ne pas être fondée sur le même effet critique pour toutes les substances du mélange) mais directement aux doses critiques (nommées *Point of Departure*, POD), qui sont le NOAEL, le LOAEL ou la BMD [40] et qui peuvent ainsi être spécifiques, pour chaque polluant du mélange étudié, de l'effet qu'ils ont en commun (équation 7).

$$\mathrm{PODI} = \sum_{i=1}^{n} \frac{\exp_i}{\mathrm{POD}_i} \qquad (7)$$

avec :
- $\exp_i$, l'exposition du composé i ;
- POD, la dose critique du composé i ;
- PODI, le *Point Of Departure Index*.

L'utilisation des BMD dans le cadre de cette démarche permet de réduire l'incertitude liée à l'hétérogénéité des données mais des relations dose-réponse de haute qualité doivent être disponibles pour estimer ces BMD avec de faibles intervalles de confiance [9]. Pour évaluer le risque potentiel d'un mélange de polluants sur la santé, le rapport entre l'exposition et le POD obtenu est multiplié par un facteur de sécurité (souvent de 100), qui représente le facteur d'incertitude global que l'on aurait appliqué en cas d'utilisation d'une VTR. Le PODI résultant doit être inférieur à 1.

Cet historique montre qu'actuellement c'est surtout le HI, le RPF, le TEF et le PODI qui ont été décrits dans la littérature et pour lesquels des lignes directrices ont été proposées.

En revanche, il existe aussi d'autres démarches moins développées. Ainsi la démarche de l'indice de risque cumulé (CRI, *Cumulative Risk Index*) peut être comparée au HI précédemment décrit puisqu'on y compare un indicateur de toxicité à l'exposition. À la différence du HI, le rapport entre les deux est inversé [9] (équation 8).

$$\mathrm{CRI} = \sum_{i=1}^{n} \frac{\mathrm{NOAEL}_i}{\exp_i \cdot \mathrm{UF}_i} = \sum_{i=1}^{n} \frac{\mathrm{VTR}_i}{\exp_i} \qquad (8)$$

avec :
- CRI, l'indice de risque cumulé ;
- $\exp_i$, l'exposition du composé i ;
- VTR, la valeur toxicologique de référence construite en faisant le ratio entre le NOAEL et les facteurs d'incertitude (UF).

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

L'intérêt de cette approche est qu'on s'affranchit des inconvénients du HI puisque les VTR sont calculées *de novo* par l'évaluateur de risques pour le même effet critique pour toutes les substances du mélange. L'intérêt d'appliquer un facteur d'incertitude à chaque molécule permet de prendre en compte les différences existantes en particulier dans la disponibilité des données et donc d'affecter des facteurs d'incertitude différents à chaque substance. L'inconvénient de cette démarche est, comme pour le HI, la mauvaise comparabilité des données, notamment si on se base sur le NOAEL, qui est très dépendant des doses testées expérimentalement [9].

Une autre démarche très similaire au CRI existe, il s'agit de la MOE_{mix} telle que présentée dans l'équation 9. Elle reprend exactement le même principe que le PODI, où les facteurs d'incertitude ne sont pas utilisés, mais le rapport entre l'exposition et le POD est inversé [41].

$$MOE_{mix} = \sum_{i=1}^{n} MOE_i = \sum_{i=1}^{n} \frac{POD_i}{exp_i} = \frac{1}{PODI} \quad (9)$$

avec :

– MOE_{mix}, la marge d'exposition calculée pour le mélange ;
– MOE_i, la marge d'exposition pour le composé i ;
– exp_i, l'exposition du composé i ;
– POD, la dose critique retenue.

De la même façon que lors du calcul du PODI, un facteur d'incertitude global est appliqué à la MOE_{mix}. Elle doit donc être cette fois-ci supérieure à 1.

Rappelons en conclusion de cet historique que toutes ces méthodes ne tiennent pas compte des interactions toxicologiques [42], qui sont, dans le domaine des expositions environnementales (faibles doses), considérées comme négligeables.

Actuellement, les plus couramment utilisées sont présentées dans le *tableau 4*.

Exemples d'applications actuelles des méthodes CRA

Aujourd'hui, ces méthodes sont utilisées par la communauté scientifique et par les évaluateurs de risques. Parmi elles, on retrouve le HI, le PODI, le RPF et le TEF. Nous avons donc cherché à décrire leurs applications les plus récentes au travers d'une revue bibliographique exhaustive.

Hazard Index (HI)

Bien que la plus ancienne, la méthode TUS n'est pas utilisée. En revanche, le HI est toujours appliqué dans certaines conditions. Par exemple en France, dans le cas des évaluations des risques sanitaires dans les études d'impact pour les installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE), les QD se rapportant aux mêmes effets toxiques et concernant le même organe cibles peuvent être additionnés. Même, en première approche, s'il n'y a pas d'information dose-réponse pertinente pour l'effet commun considéré, les QD de différentes voies d'exposition peuvent être additionnés sur la base de VTR n'ayant pas les mêmes effets critiques [6].

En 2010, Kortenkamp et Faust ont adapté la démarche de l'HI à la qualité des informations disponibles dans la littérature afin d'évaluer les risques cumulés liés à l'exposition de la femme enceinte à 15 antiandrogènes communément retrouvés dans l'environnement [43]. Ils ont construit des VTR spécifiques relatives à l'effet anti-androgène et ont ainsi pu tenir compte de la différence dans la qualité des données grâce à l'application de facteurs d'incertitude (variant de 100 à 500 selon les informations disponibles). Dans cette étude, les auteurs se sont intéressés à 5 phtalates (di-n-butylphtalate [DBP], di-iso-butylphtalate [DiBP], benzylbutylphtalate [BBP], di-iso-nonylphtalate [DiNP] et di-éthylhexylphtalate [DEHP]), 6 pesticides (vinclozoline, prochloraz, procymidone, linuron, fenitrothion, p,p'-DDE), 2 parabènes (butyl-parabène et propyl-parabène), un polybromodiphényléther (le BDE-99) et le bisphénol A. Ces substances ont été groupées en fonction de leur capacité à induire une insuffisance androgénique. Plusieurs effets tels que la diminution de la synthèse de la testostérone foetale, la diminution de la distance anogénitale, la rétention des mamelons, la modification du poids d'organes sexuels secondaires sous le contrôle d'androgènes ou la diminution de la qualité du sperme ont donc été retenus. Sur cette base, 11 de leurs 15 polluants étaient des antiandrogéniques avérés *in vivo* chez les rats

Tableau 4. Principales méthodes d'évaluation des risques sanitaires cumulés.

Table 4. Principal methods for cumulative health risk assessment.

Hazard Index	Point of Departure Index	Relative Potency Factor, ou Toxic Equivalent Factor
$HI = \sum_{i=1}^{n} QD_i = \sum_{i=1}^{n} \frac{Exposition_i}{VTR_i}$	$PODI = \sum_{i=1}^{n} \frac{exp_i}{POD_i}$	$RPF_i = \frac{Indicateur\ de\ toxicité_{TR}}{Indicateur\ de\ toxicité_i}$
Somme des quotients de dangers basés sur le rapport entre l'exposition et la VTR de chaque substance d'un mélange	PODI = somme des rapports entre l'exposition et un indicateur de toxicité (POD) de chaque substance d'un mélange.	Somme des rapports entre l'exposition, à laquelle on applique un facteur de puissance relative au toxique de référence, et la VTR de ce toxique de référence

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

(perturbations de la différenciation de l'appareil sexuel mâle). Ils comprenaient les 5 phtalates et les 6 pesticides. Pour les 4 autres, les preuves de l'anti-androgénicité étaient surtout évaluées *in vitro*. Selon la nature des données ou la qualité des études sources, les auteurs ont ensuite appliqué des facteurs d'incertitude propres à chaque substance. Par exemple, un facteur de 200 a été appliqué au NOAEL des DBP, DiBP et BBP (même étude source) en raison du faible nombre d'animaux testés dans l'étude critique (3 à 5 [44]). Pour le DiNP, seul le LOAEL était disponible : ainsi, les auteurs ont appliqué un facteur de 500. Le *tableau 5* présente les VTR spécifiques construites pour les effets antiandrogènes.

En 2012, d'autres auteurs ont comparé les quotients de dangers obtenus pour 4 phtalates (le DBP, le DEHP, le BBP et le DiNP) en utilisant la démarche HI [45]. Leurs évaluations ont été basées sur des valeurs de référence déterminées soit par l'EFSA (*European Food Safety Authority*, Autorité européenne de sécurité alimentaire), soit par celles de Kortenkamp, mais toutes sur les effets antiandrogéniques de ces polluants. Les deux approches donnent des résultats différents puisque c'est le DBP qui apparaît comme le plus toxique avec les VTR de l'EFSA alors que c'est le DEHP qui est associé au plus grand risque avec les VTR de Kortenkamp. Cette différence est expliquée par le fait que l'EFSA utilise, pour le DBP, une dose critique 10 fois plus faible que celle qu'utilisent Kortenkamp et Faust (10 µg/kg/j contre 100 µg/kg/j respectivement). Ainsi, on souligne ici l'importance d'homogénéiser les études sources (même effet critique ou réponse ; même population ; même voie d'exposition. . .) et donc les valeurs de références à utiliser, pour chaque polluant et pour chaque type d'effet considéré comme critique.

La démarche du HI amélioré a également été utilisée par Borg et son équipe en 2013 [46] pour évaluer, entre autres, les risques cumulés de 15 perfluoroalkyles en Suède suite à une exposition environnementale. Les auteurs ont utilisé des POD équivalents aux concentrations sériques des substances correspondant la plupart du temps aux NOAEL, parfois au LOAEL (pour les effets hépatotoxiques des PFDoDA et PFNA) ou à une BMDL (pour les effets reprotoxiques du PFOA uniquement). Au regard des informations disponibles dans la littérature, tous les polluants n'étaient pas égaux. En effet, certains des perfluoroalkyles ne possédaient pas d'information toxicologique (effets ou cinétiques) suffisante. Pour ceux-ci, ils ont procédé à une extrapolation simple en appliquant les données du congénère le plus toxique. Ils ont ensuite construit des VTR pour chacun des polluants en y appliquant des facteurs d'incertitude adaptés à chaque situation. Le *tableau 6* présente les VTR spécifiques construites pour les effets hépatotoxiques et les effets sur la reproduction de ces 15 perfuloroalkyles.

Cette démarche d'*Hazard Index* améliorée apporte plusieurs évolutions au HI traditionnel et en particulier la

Tableau 5. VTR (valeurs toxicologiques de référence) fondées sur des effets antiandrogènes, construites par Kortenkamp et Faust, de l'évaluation des risques cumulés de 15 substances selon la démarche du *Hazard Index*.

Table 5. TRVs (Toxicity Reference Values) based on anti-androgenic effects and constructed by Kortenkamp and Faust from the cumulative risk assessment of 15 substances according to the hazard index procedure.

Composés	Effet critique retenu chez le mâle exposé *in utero* et nature de la dose critique	Facteur d'incertitude	VTR antiandrogénique (µg/kg/j)
DBP	↘ testostérone, BMDL	200	100
DiBP	↘ testostérone, BMDL	200	200
BBP	↘ testostérone, BMDL	200	330
DiNP	↘ testostérone, LOAEL	500	1 500
DEHP	Rétention de mamelons, NOAEL	100	30
Vinclozoline	Rétention de mamelons, NOAEL	100	50
Prochloraz	Rétention de mamelons, NOAEL	100	50
Procymidone	Rétention de mamelons, NOAEL	100	100
Linuron	Rétention de mamelons, LOAEL	500	100
p,p′-DDE	Rétention de mamelons, NOAEL	100	100
Fenitrothion	↘ de la distance anogénitale, LOAEL	100	200
BDE-99	↘ testostérone et distance anogénitale, NOAEL	100	10
Bisphénol A	↘ testostérone, NOAEL	100	12,5
Butyl-parabène	↘ testostérone, poids des épididymes et production spermatique, NOAEL	100	100
Propyl-parabène	↘ testostérone, poids des épididymes et production spermatique, NOAEL	100	1 000

BMDL : *Benchmark Dose Limit*/limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % de la *benchmark dose* ; LOAEL : *Lowest Observed Adverse Effect Level*/dose minimale avec effet néfaste observé ; NOAEL : *No Observed Adverse Effect Level*/dose maximale sans effet néfaste observable.

Tableau 6. VTR (valeurs toxicologiques de référence) construites par Borg *et al.* [46] pour l'évaluation des risques cumulés liés à l'exposition environnementale de 15 perfluoroalkyles selon la démarche du Hazard Index.

Table 6. TRVs (Toxicity Reference Values) constructed by Borg et al. *[46] for assessment of the cumulative risks associated with environmental exposure to 15 perfluoroalkyls according to the hazard index procedure.*

Composés	Dose critique/foie (ng/mL de sérum)	Facteur d'incertitude[a]	VTR/foie (ng/mL de sérum)	Dose critique/ reproduction (ng/mL de sérum)	Facteur d'incertitude[a]	VTR/reproduction (ng/mL de sérum)
PFBS	66 754[b]	50	1 335	> 45 000[b]	25	> 1 800
PFHxS	89 000	50	1 780	> 60 000 [c]	25	> 2 400
PFOS	4 040	25	162	4 900	25	196
PFOSA	4 032[d]	25	161	4 890[d]	25	196
PFDS	4 848[d]	75	65	5 880[d]	75	78
PFPxA	5 385[e]	50	108	11 908[e]	25	476
PFHpA	6 245[e]	50	125	13 804[e]	25	552
PFOA	7 100	50	142	15 700	25	628
PFNA	28 500	150	190	8 900	25	356
PFDA	31 571[f]	450	70	9 859[f]	75	263
PFUnDA	34 642[f]	450	77	10 818[f]	75	144
PFDoDA	37 713[f]	450	84	11 777[f]	75	157
PFTrDA	40 784[f]	450	91	12 736[f]	75	170
PFTeDA	43 855[f]	450	97	13 695[f]	75	183
6:2 FTS	3 451[d]	25	138	4 185[d]	25	167

[a] Les facteurs d'incertitude appliqués l'ont été comme suit : 2 pour l'extrapolation d'une durée subaiguë ou subchronique à chronique pour les effets hépatotoxiques ; 3 et 6 pour l'extrapolation subchronique à chronique et subaiguë à chronique respectivement pour les effets reprotoxiques ; 3 pour l'extrapolation du LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*/dose minimale avec effet néfaste observé) au NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*/ dose maximale sans effet néfaste observable) ; 2,5 pour l'extrapolation de l'animal à l'homme ; 10 pour la variabilité interindividuelle au sein de l'espèce humaine ; [b] Extrapolation à partir du PFHxS ; [c] Dans l'étude toxicologique, la plus haute dose testée n'a pas entraîné d'effet significativement différent du témoin, le NOAEL est donc considéré comme supérieur à cette dose ; [d] Extrapolation à partir du PFOS ; [e] Extrapolation à partir du PFOA ; [f] Extrapolation à partir du PFNA.

[a] *Uncertainty factors have been applied as follows: 2 for extrapolation from subacute or subchronic to chronic duration for hepatotoxicity; 3 and 6, respectively, for extrapolation from subchronic to chronic and from subacute to chronic for reproductive effects; 3 for extrapolation from LOAEL to NOAEL; 2.5 for extrapolation from animal to humans, 10 for inter-individual variability in humans;* [b] *Extrapolation from PFHxS;* [c] *In the toxicological study, the highest tested dose did not lead to effects significantly different from those in the control; the NOAEL is therefore considered superior to this dose;* [d] *Extrapolation from PFOS;* [e] *Extrapolation from PFOA;* [f] *Extrapolation from PFNA.*

possibilité de ne retenir qu'un seul effet critique commun à toutes les substances du mélanges (cela ne veut pas pour autant dire qu'une évaluation du risque substance par substance ne doit pas être faite sur la base de l'effet critique le plus sensible pour chacune des substances).

Toxic Equivalency Factor (TEF)

Dans le but d'harmoniser les démarches concernant l'évaluation des risques liés aux HAP, et à l'instar de ce qui a été fait sur les dioxines, compte tenu du fait que les HAP sont capables de se lier au récepteur AhR, l'Ineris a, en 2003, adopté des TEF pour 19 d'entre eux sur la base de nombreux travaux antérieurs, et en particulier ceux de Nisbet et Lagoy [47]. Les indicateurs toxicologiques utilisés pour le calcul des TEF provenaient de la comparaison des relations dose-réponse (modalisations, excès de risques unitaires) obtenues dans des études de cancérogenèse chez le rat exposé de manière intratrachéale ou par implants pulmonaires, et chez la souris exposée par voie cutanée. Le composé de référence est le benzo[a]pyrène car c'est l'un des HAP les mieux étudiés et il est toujours présent dans les mélanges représentant les contaminations environnementales. Les TEF recommandés par l'Ineris sont présentés dans le *tableau 7* [48].

Comme pour les dioxines, l'une des principales limites de l'application de ces TEF pour les HAP est que les indicateurs toxicologiques qui ont été comparés entre eux ne provenaient pas d'études toxicologiques comparables : espèces testées différentes (rats et souris, parfois même études *in vitro*), voies d'administration différentes (cutanée, intratrachéale, pulmonaire), types de tumeurs différentes (carcinomes pulmonaires, papillomes et carcinomes cutanés, par exemple). Ainsi, plus récemment et toujours pour les HAP, des chercheurs ont proposé des TEF sur la base d'une génotoxicité évaluée *in vitro* sur des lignées d'hépatomes cellulaires humains HepG2 et intestinales LS-174T (Test H2AX) [49] qu'ils ont nommés *Genotoxic Equivalent Factor* (GEF) (*tableau 8*). Ils ont analysé la phosphorylation des histones H2AX (marqueur d'altérations de l'ADN type adduits ou lésions oxydatives) de 13 HAP à faibles doses (concentrations testées de 10^{-8} à 10^{-5}) sur ces cellules exposées 24 heures.

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

Tableau 7. TEF (*Toxic Equivalence Factors*) recommandés par l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Ineris) pour l'évaluation des risques cancérigènes des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) [48].

Table 7. TEF (Toxic Equivalence Factors) recommended by INERIS for carcinogenic risk assessment of PAHs [48].

Composés	TEF
Benzo[a]pyrène	1
Dibenz[a,h]anthracène	1
Benz[a]anthracène	0,1
Benzo[b]fluoranthène	0,1
Benzo[k]fluoranthène	0,1
Cyclopenta[c,d]pyrène	0,1
Dibenz[a,c]anthracène	0,1
Indéno[1,2,3-cd]pyrène	0,1
Anthracène	0,01
Benzo[g,h,i]perylène	0,01
Chrysène	0,01
Acénapthène	0,001
Acénaphtylène	0,001
Coronène	0,001
Fluoranthène	0,001
Fluorène	0,001
Naphtalène	0,001
Phénanthrène	0,001
Pyrène	0,001

On voit que les GEF ainsi proposés sont très différents et globalement plus élevés que les TEF adoptés par l'Ineris. Outre la réponse observée qui diffère (mesure globale de génotoxicité liée à diverses altérations de l'ADN comme la formation d'adduits à l'ADN ou les lésions oxydatives, *versus* apparition de tumeurs), les différences peuvent également être liées à l'utilisation de cellules humaines cancérisées, de très faibles doses de HAP, et une méthode de modélisation différente.

Si le développement des méthodes de calcul de TEF permet de réaliser des évaluations cumulées des risques sanitaires et donc de mieux répondre à la réalité des expositions humaines, et si les mécanismes d'action des substances sont de mieux en mieux documentés, ces illustrations montrent que la mise en place de méthodes de calculs standardisées semble nécessaire (utilisation de protocoles identiques, mêmes espèces ou mêmes lignées cellulaires, mêmes voies et durées d'exposition, mêmes indicateurs toxicologiques...).

D'ailleurs, l'OMS proposait dans son meeting de 2005 un protocole « idéal » pour les études devant servir au calcul de TEF liés aux dioxines, mais qui peut être étendu à d'autres molécules [28] :

– l'administration du congénère et de la 2,3,7,8-TCDD (composé index) selon la même voie d'exposition, à la même espèce animale, de même souche, sexe et âge, maintenue dans des conditions expérimentales identiques (éclairage, alimentation...) dans le même laboratoire ;

– de préférence un protocole *in vivo*, qui prend en compte de manière globale les aspects toxicocinétiques et toxicodynamiques (bien que les études *in vitro* soient nécessaires pour établir le mécanisme d'action de la substance) ;

– un protocole permettant de modéliser une relation dose-réponse complète à la fois pour le congénère et pour le composé index ;

– la réponse maximale observée devrait être la même à la fois pour le congénère et le composé index, avec si possible une relation parallèle ;

– l'utilisation du ratio des ED_{50}, à défaut BMD ou LOAEL.

Tableau 8. GEF (*Genotoxic Equivalent Factors*) proposés pour 13 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur la base de la phosphorylation des histones H2AX *in vitro* (Audebert *et al.* [49]).

Table 8. GEF (Genotoxic Equivalence Factors) proposed for 13 PAHs based on in vitro *phosphorylation of histones H2AX (Audebert* et al. [49]).

Composés	GEF
Dibenzo[a,l]pyrène	25
Diméthyl-benz[a]anthracène	10
Dibenz[a,h]anthracène	2,0
Benzo[b]fluoranthène	1,5
Benzo[a]pyrène	1,0
Benzo[k]fluoranthène	1,0
Benz[a]anthracène	0,5
Benzo[c]fluorène	0,5
Chrysène	0,3
Indéno[1,2,3-cd]pyrène	0,2
Benzo[ghi]pérylène	0,1
Pyrène	0,001
Fluoranthène	0,001

Relative Potency Factor (RPF)

La démarche RPF est aujourd'hui très largement utilisée par les auteurs car elle permet d'évaluer la puissance relative d'un polluant dans un groupe et donc de hiérarchiser l'intérêt et la part de responsabilité des substances pour un type d'effet particulier, sans se préoccuper des mécanismes d'action moléculaires sous-jacents (ceux-ci peuvent être différents tant que le mode d'action reste similaire, ou inconnus).

En 2005, Wolansky et ses collaborateurs ont calculé des RPF pour 11 insecticides pyréthrinoïdes couramment utilisés. Ils se sont fondés sur une diminution, *in vivo*, de 30 % de l'activité motrice (ED_{30}) chez le rat mâle adulte Long Evans exposé par voie orale à dose unique (8 à 18 rats

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

par groupes de doses, 6 à 11 groupes de doses en fonction des molécules). Il s'agit donc de l'évaluation de la toxicité aiguë chez l'adulte. Le mode d'action implique la prolongation de l'ouverture des canaux sodium dans les tissus nerveux, ce qui entraîne une dépolarisation prolongée des neurones. Les mécanismes en cause ne sont pas tous élucidés. La deltaméthrine a été retenue comme toxique de référence. Le but de l'étude étant d'avoir au moins trois doses sans effets par polluant (les doses à toxicité trop importante, induisant par exemple la mortalité, n'ont pas été inclues dans l'analyse de données). Leurs résultats montrent par exemple que l'esfenvalerate et la delta-cyhalothrine sont les plus toxiques pour cet effet (RPF de 2,092 et 1,902 respectivement) et que la resméthrine est la moins toxique pour cet effet (RPF = 0,009) (*tableau 9*) [50].

À partir d'une inhibition de 20 % de l'AChE, et sur les mêmes données que l'US EPA en 2006, Bosgra *et al*. ont calculé des RPF pour l'évaluation des risques cumulés liés à l'exposition à 31 pesticides organophosphorés retrouvés sur le marché néerlandais en 2005 et 2006 [51]. L'approche s'est basée sur la comparaison des BMD équivalant à une diminution de 20 % de l'AChE (*tableau 10*). Pour 16 de ces 31 molécules, les auteurs se sont fondés sur les études conduites par l'US EPA au début des années 2000, sur les rats mâles et femelles, où ils ont mesuré l'activité de l'AChE dans le cerveau, les globules rouges et le sérum. Pour les 15 autres molécules, les relations dose-réponse n'étant pas disponibles, les auteurs ont déterminé une dose correspondante à une inhibition de 20 % de l'AChE, en se basant sur la relation dose-réponse du composé de référence (le méthamidophos) et sur les recommandations de l'OMS [52].

Si Bosgra *et al*. se sont fondés sur les études de l'US EPA de 2001 (réévaluées en 2006) pour calculer leurs RPF,

Tableau 9. RPF (*Relative Potency Factor*) de 11 pyréthrinoïdes basés sur l'inhibition de l'activité motrice lors d'une exposition aiguë unique chez le rat adulte mâle (adapté de Wolansky *et al.* [50]).

Table 9. RPF (Relative Potency Factor) of 11 pyrethroids based on motor activity inhibition during a single acute exposure of adult male rats (adapted from Wolansky et al. *[50]).*

Composés	RPF
Lambda-cyhalothrine	1,902
Bêta-cyfluthrine	1,136
Tefluthrine	1,111
Deltaméthrine	1,000
Bifenthrine	0,782
Fenpropathrine	0,326
Cyperméthrine	0,235
Perméthrine	0,059
s-Bioallethrine	0,028
Resméthrine	0,009

Tableau 10. Valeurs de RPF (*Relative Potency Factor*) proposées pour 31 insecticides organophosphorés par Bosgra *et al.* en 2009 [51], fondées sur la comparaison d'une diminution de 20 % de l'acétylcholinestérase dans des études *in vivo* subchroniques ou chroniques par voie orale chez le rat femelle.

Table 10. RPF (Relative Potency Factor) values proposed for 31 organophosphorous insecticides by Bosgra et al. *in 2009 [51], based on the comparison of a 20 % reduction of acetylcholinesterase in* in vivo *studies of subchronic or chronic oral ingestion in female rats.*

Composé	RPF
Monocrotophos	5,4
Omethoate	1,5
Ethion	1,1
Methamidophos	1,00
Mevinphos	0,98
Primiphos-éthyle	0,98
Mecarbam	0,37
Azinphos-méthyle	0,35
Fenthion	0,33
Chlorfenvenfos	0,32
Méthyl-parathion	0,20
Parathion	0,19
Méthidathion	0,16
Heptenofos	0,16
Diméthoate	0,13
Fenitrothion	0,11
Phosmet	0,073
Chlopyrifos	0,065
Pirimiphos-méthyle	0,047
Pyrazophos	0,042
Acéphate	0,038
Dichlorvos	0,036
Diazinon	0,032
Phosalone	0,028
Bromophos-éthyle	0,026
Quinalphos	0,026
Chlorpyrifos-méthyle	0,010
Triazophos	0,0060
Profenofos	0,0039
Malathion	0,00082
Toclofos-méthyle	0,00011

les valeurs qu'ils obtiennent sont différentes de celles de l'US EPA car ils partent d'une diminution de 20 % de l'activité de l'AChE et non pas d'une diminution de 10 % comme l'avait envisagé l'US EPA. La réponse critique choisie n'étant pas la même, il est donc normal de trouver des valeurs de RPF différentes.

Toujours en 2009, Müller et son équipe ont cherché à évaluer les puissances toxiques de trois pesticides antiandrogènes – la vinclozoline, la procymidone et le prochloraz – pour trois indicateurs différents : la distance

Tableau 11. RPF (*Relative Potency Factors*) calculés par Müller *et al.* [53] pour trois pesticides antiandrogéniques lors d'expositions pendant la gestation et la période post-natale.

Table 11. RPF (Relative Potency Factors) calculated by Müller et al. *[53] for 3 anti-androgenic pesticides during prenatal and postnatal exposure.*

Composé/effets	RPF		
	Diminution de la distance anogénitale	Diminution du poids des vésicules séminales	Diminution du poids des muscles releveurs de l'anus
Vinclozoline	1	1	1
Procymidone	1,17	0,88	1,65
Prochloraz	0,20	n.d.	0,62

n.d. = non défini/*not defined*.

anogénitale, le poids des vésicules séminales, et le poids des muscles releveurs de l'anus chez les fœtus de rats mâles exposés *in utero* et après la naissance jusqu'au sevrage (*tableau 11*) [53]. Pour chacun de ces effets, les RPF ont été construits à partir de relations dose-réponse disponibles dans la littérature. Par ailleurs, dans leur méthode, les auteurs soulignent le fait que la démarche RPF ne peut être appliquée que si trois critères sont remplis pour le groupe de polluants d'intérêt : i) un mode d'action commun ; ii) une absence d'interaction entre les polluants ; et iii) des courbes dose-réponse parallèles.

On voit très clairement dans le *tableau 11* que la valeur des RPF est extrêmement dépendante de l'effet critique retenu. En effet, la procymidone est par exemple considérée comme plus toxique que la vinclozoline si on s'intéresse à la diminution de la distance anogénitale, mais l'est moins pour la diminution du poids des vésicules séminales. Il est donc très important dans ce genre d'étude de bien définir l'effet critique avant d'entreprendre le calcul de RPF.

Tableau 12. RPF (*Relative Potency Factors*) calculés par Benson en 2009 [54] pour 6 phtalates, fondés sur la comparaison de leurs valeurs toxicologiques de référence (VTR) basée sur les effets antiandrogéniques.

Table 12. RPF (Relative Potency Factors) calculated by Benson in 2009 [54] for 6 phthalates, based on a comparison of their TRVs (Toxicity Reference Values) for their anti-androgenic effects.

Composé	Dose critique/facteur d'incertitude	RPF
DPP	$BMDL_{1SD}$ /100	1,26
DEHP	$BMDL_{10}$ /100	1,00
DBP	NOAEL/100	0,64
DiNP	LOAEL/1 000	0,39
DiBP	$BMDL_{1SD}$ /100	0,24
BBP	$BMDL_{1SD}$ /100	0,21

BMDL : *Benchmark Dose Limit*/limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % de la benchmark dose ; LOAEL : *Lowest Observed Adverse Effect Level*/dose minimale avec effet néfaste observé ; NOAEL : *No Observed Adverse Effect Level*/dose maximale sans effet néfaste observable.

En 2009, Benson a cherché à évaluer les risques pour le développement du système reproducteur mâle lors d'une exposition *in utero* cumulée à des phtalates (DBP, DiBP, BBP, DEHP, DPP, DiNP) selon une approche RPF fondée sur la comparaison de VTR [54]. Des VTR ont donc été calculées en appliquant aux indicateurs de toxicité disponibles (NOAEL, LOAEL ou BMDL correspondant à un écart type, soit $BMDL_{1SD}$) des facteurs d'incertitude (10 pour la variabilité interespèce, 10 pour la transposition intra-espèce et 10 lors de l'utilisation d'un LOAEL). Ces VTR ont ensuite été comparées à celle du DEHP, considéré comme le toxique de référence pour fournir des RPF, ce qui n'est pas habituel. Ces RPF sont présentés dans le *tableau 12*. L'effet critique retenu était la diminution de la production de testostérone fœtale pour tous les phtalates, excepté pour le DEHP, pour lequel la petite taille des organes de reproduction mâle a été sélectionnée car équivalent à la dose critique la plus faible dans les études disponibles. Cette différence d'effet critique est une limite pouvant conduire à situer de manière incorrecte la toxicité du DEHP au regard des autres phtalates (on a effectivement montré au travers de cette revue que le choix de l'effet et de la réponse critiques conditionnait la toxicité relative des substances). En effet, en se basant sur une BMD relative à la diminution de la testostérone pour le DEHP, le potentiel toxique des 6 phtalates aurait été différent (DPP>DBP>DEHP>DiNP>DiBP>BBP). Une autre limite concerne la non-comparabilité des doses critiques utilisées, en particulier pour le DBP et le DiNP (NOAEL et LOAEL), pouvant conduire à sur- ou sous-évaluer leur toxicité au regard des autres composés.

En 2011, l'équipe de Hannas [3] a également cherché à caractériser les puissances respectives de différents

[3] Les protéines concernées sont la « *Chlolesterol Side Chain Cleavage Enzyme* » ou P450scc ou Cyp11a (enzyme impliquée dans la biosynthèse d'hormones stéroïdes), la « *Steroidogenic Acute Regulatory Protein* » ou StAR (protéine de transport du cholestérol dans les mitochondries pour la biosynthèse des hormones stéroïdes) et l'« *Insulin-Like Factor 3* » ou insl3 (hormone responsable, entre autre, de la descente testiculaire). Les Cyp11a et StAR sont directement impliquées dans la production de testostérone.

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

Tableau 13. Valeurs de RPF (*Relative Potency Factors*) adaptées de l'étude d'Hannas *et al.* [3] pour cinq phtalates, fondées sur leurs effets antiandrogéniques (diminution de la testostérone fœtale, inhibition de l'expression de certaines protéines impliquées dans la stéroïdogenèse).

Table 13. RPF (Relative Potency Factor) values adapted from the study by Hannas et al. *[3] for 5 phthalates, based on their anti-androgenic effects (reduction of fetal testosterone and inhibition of the expression of some proteins involved in steroidogenesis).*

Composé	RPF			
	Diminution de l'expression de la testostérone foetale	Diminution de l'expression de StAR*	Diminution de l'expression de CYP11A*	Diminution de l'expression de INSL3*
DPP	1	1	1	1
DiBP	0,15	0,24	0,84	n.d.
DiHP	0,11	n.d.	n.d.	n.d.
DEHP	0,11	0,10	0,25	0,15
DiNP	0,06	0,05	0,11	n.d.

*StAR: *Steroidogenic Acute Regulatory Protein*; CYP11A: *Chlolesterol Side Chain Cleavage Enzyme*; INSL3: *Insulin-Like Factor 3*.
n.d. = non défini/*not defined*.

phtalates et leur contribution, quand ils sont en mélange, sur la production fœtale de testostérone et l'expression de protéines impliquées dans la stéroïdogenèse ou responsables du développement de l'appareil sexuel mâle[3]. À l'inverse de l'étude de Benson de 2009, ils ont eux-mêmes fait les tests *in vivo*. Ils ont exposé des rates gestantes aux phtalates pris individuellement, par voie orale, entre le 14e et le 18e jour de gestation, à des doses allant de 100 à 1 500 mg/kg/jour (variant selon les phtalates testés). À partir des relations dose-réponse obtenues, les auteurs ont calculé les ED_{50} de chaque phtalate pour la production de testostérone et l'expression des protéines chez les fœtus euthanasiés au 18e jour de la gestation. Le *tableau 13* montre les facteurs de puissance relative des phtalates en fonction de l'effet retenu, à savoir la diminution de l'expression de la testostérone (DPP > DiBP > DiHP > DEHP > DiNP), l'expression de StAR (DPP > DiBP = DEHP > DiNP) ou de Cyp11a (DPP = DiBP > DEHP > DiNP). On remarque que l'ordre des puissances relatives obtenues par Benson, sur la base de la diminution de testostérone, est différent de celui qui est obtenu par Hannas, pour les phtalates d'intérêt. Comme l'explique Benson dans son article, il s'est basé sur des données de la littérature. Les relations dose-réponse obtenues ne proviennent donc pas d'une même étude, ni d'un même laboratoire, ce qui engendre une incertitude sur la comparabilité des données.

Plus récemment, Jensen et ses collaborateurs ont calculé des RPF pour 4 fongicides perturbateurs endocriniens (epoxiconazole, prochloraz, procymidone et tebuconazole). Le composé index retenu était le prochloraz, qui est le plus étudié [4]. Les RPF ont été construits à partir de relations dose-réponse (comparaison des BMDL, niveau de réponse non précisé) pour l'augmentation de la durée de gestation de la femelle gestante et la rétention des mamelons chez la descendance mâle après exposition par gavage de rates du 7e au 21e jour de gestation puis du 1er au 21e jour post-natal (*tableau 14*).

Tableau 14. RPF (*Relative Potency Factors*) calculés sur la base de la comparaison des BMDL (*Bench Mark Dose Limits*) lors d'expositions orales pendant la gestation et la période pré-sevrage pour 4 fongicides perturbateurs endocriniens (Jensen *et al.* [4]).

Table 14. RPFs (Relative Potency Factors) calculated on the basis of the comparison of the BMDL (Bench Mark Dose Limits) during oral exposures during gestation and the preweaning period for 4 endocrine-disrupting fungicides (Jensen et al. *[4]).*

Composé	RPF pour l'augmentation de la durée de gestation	RPF pour la rétention des mamelons
Prochloraz	1	1
Tébuconazole	0,5	0,6
Époxiconazole	4,9	0,7
Procymidone	n.d.	3,5

n.d. = non défini/*not defined*.

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

Tableau 15. Estimation d'un PODI (*Point Of Departure Index*) pour 13 perturbateurs endocriniens à partir de données de la littérature (adapté de Christiansen *et al.* [55]).

Table 15. Estimation of a PODI (Point Of Departure Index) for 13 endocrine disrupters from data in the literature (adapted from Christiansen et al. *[55]).*

Composé	Expositions (mg/kg/jr)	Doses critiques (diminution de la distance anogénitale ou absence de rétention des mamelons) (mg/kg/jr)	Ratio expositions/ doses critiques
DBP	0,01	50	0,0002
DEHP	0,02	3	0,0067
Vinclozoline	0,009	5	0,0018
Prochloraz	0,014	5	0,0028
Procymidone	0,015	10	0,0015
Linuron	0,0006	25	0,000024
Époxiconazole	0,01	15	0,0007
4-méthyl-benzylidene	0,06	n.d.*	n.d.*
Octyl méthoxycinnamate	0,12	n.d.*	n.d.*
p,p'-DDE	0,001	10	0,0001
Bisphénol A	0,0015	n.d.*	n.d.*
Butyl parabène	0,06	n.d.*	n.d.*
Paracétamol	0,8	350	0,0023
PODI estimé			0,016

* n.d. = non défini/*not defined.*

Si les RPF sont relativement similaires pour le tébuconazole comparé au prochloraz quelle que soit la réponse observée, le potentiel toxique de l'époxiconazole est très différent en fonction de l'indicateur retenu, puisqu'il passe d'un potentiel toxique environ 5 fois plus élevé que le prochloraz pour l'allongement de la durée de gestation, à un potentiel toxique équivalent à 70 % de celui du prochloraz pour la rétention des mamelons. Là encore, cette étude montre l'importance de la comparabilité des indicateurs retenus pour la construction des équivalents toxiques, qu'ils soient TEF ou RPF, et surtout l'importance, dans l'évaluation du risque, de retenir une VTR du composé index basée sur le même type d'effet et le même type d'indicateur, et obtenu dans des conditions expérimentales similaires (il peut donc être nécessaire d'utiliser plusieurs VTR pour un même composé index en fonction des TEF ou des RPF proposés dans la littérature). Par exemple, si les TEF (ou RPF) sont basés sur la comparaison des DL_{50}, alors la VTR du composé index retenue pour l'évaluation des risques cumulés doit être fondée sur une étude de toxicité aiguë ayant permis d'obtenir une DL_{50} (l'effet retenu sera donc la mortalité). Si des $BMDL_{50}$ sont comparées, la VTR du composé index devrait être calculée à partir de la $BMDL_{50}$ plutôt que de la $BMDL_{10}$, etc.

Pour conclure, il est donc important pour l'évaluateur de risque de vérifier :
– les conditions expérimentales (voie, durée, espèces) ;
– l'effet retenu (mortalité, apparition de tumeurs, activité motrice, diminution de la qualité du sperme, etc.) ;
– la mesure de la réponse (inhibition de l'acétylcholinestérase, génotoxicité, distance anogénitale, etc.) ;
– l'indicateur retenu pour le calcul du TEF ou du RPF (NOAEL ou BMD par exemple).

Point of Departure Index (PODI)

Dans leur étude de 2012, Christiansen et ses collaborateurs ont utilisé la démarche PODI, dans une première étape, afin d'évaluer les risques d'une exposition à un mélange de 13 perturbateurs endocriniens sur la rétention des mamelons ou la diminution de la distance anogénitale [55]. Les doses induisant ces effets critiques (NOAEL ou LOAEL) ont été obtenues à partir des données de la littérature, tout comme l'estimation des valeurs d'exposition humaine. À partir de ces données, ils ont fait le rapport entre les valeurs d'exposition (adaptées pour l'étude) et les POD correspondants afin d'estimer un PODI théorique (décrivant le risque aux doses testées) (*tableau 15*).

Conclusion

Depuis les hypothèses de dose additivité de début du XX^{e} siècle, de nombreuses méthodes d'évaluation des risques ont vu le jour. Même si la plupart d'entre elles ont largement été décrites, elles sont en constante évolution

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

afin d'appréhender au mieux le risque lié à l'exposition multipolluants. Certaines ne sont plus utilisées et d'autres ne le sont que très peu car trop récentes ou pas assez décrites.

Aujourd'hui, l'EQRS en mélange repose essentiellement sur : la démarche TEF lorsque les modes d'action des polluants sont suffisamment documentés ; la démarche RPF qui permet de hiérarchiser et de donner une puissance relative à chaque polluant et qui est moins dépendante des mécanismes d'actions ; enfin, la démarche dite de l'HI « amélioré » qui est l'exemple même de l'évolution d'une méthode obsolète (le HI standard), se rapprochant et s'adaptant à une démarche plus récente qu'est le PODI.

Ces démarches sont toutes fondées sur l'hypothèse d'additivité des doses qui néglige les interactions possibles interpolluants. Or, certaines études, comme celle de Christiansen de 2009, montrent que les interactions entre polluants ne doivent pas être négligées car elles peuvent conduire à une sous-estimation du risque. Les auteurs y décrivent le cas de polluants ayant des effets communs sur l'organisme (antiandrogéniques) sans passer par le même mécanisme d'action [56]. Des recherches sur les effets non additifs et leur prise en compte en évaluation des risques sanitaires sont nécessaires.

Dans l'immédiat, l'hypothèse d'additivité des doses peut cependant être utilisée par défaut, et l'application des méthodes décrites dans cet article est recommandée. ■

Remerciements et autres mentions

Financement : ce travail a été financé par le ministère de l'Écologie et du Développement durable dans le cadre du programme PRIMEQUAL (12-MRES-PRIMEQUAL-1-CVS-06) ; **liens d'intérêts** : aucun.

Liste des acronymes

AChE	Acétylcholinestérase	ADN	Acide désoxyribonucléique
AhR	*Arylhydrocarbon Receptor* (récepteur arylhydrocarbone)	BBP	Benzylbutylphtalate
BMD	*Benchmark Dose*	BMDL	Limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % de la *benchmark dose*
CED	*Critical Effect Dose* (dose critique pour un effet donné, équivaut à la BMD)	CRA	*Cumulative Risk Assessment* (évaluation des risques cumulés)
CRI	*Cumulative Risk Index* (index de risque cumulé)	DBP	Di-n-butylphtalate
DEHP	Di-éthylhexylphtalate	DiBP	Di-iso-butylphtalate
DiNP	Di-iso-nonylphtalate	DL_{50}	Dose létale 50 (dose qui entraîne 50 % de mortalité chez les animaux exposés)
DPP	Dipentylphtalate	EC/ED	*Effective Concentration/Dose* (concentration ou dose efficace)
EFSA	*European Food Safety Authority* (Autorité européenne de sécurité alimentaire)	EQRS	Évaluation quantitative des risques sanitaires
GEF	*Genotoxic Equivalent Factors* (facteurs d'équivalence pour la génotoxicité)	HAP	Hydrocarbure aromatique polycyclique
HI	*Hazard Index*	IPCS	*International Programme On Chemical Safety*
INERIS	Institut national de l'environnement industriel et des risques	LOAEL	*Lowest Observed Adverse Effect Level* (dose minimale avec effet néfaste observé)
MOE	*Margin Of Exposure* (marge d'exposition)	NOAEL	*No Observed Adverse Effect Level* (dose maximale sans effet néfaste observable)
NRC	*National Research Council*	OMS	Organisation mondiale de la santé
OTAN	Organisation du traité de l'Atlantique Nord	PCB	Polychlorobyphényles
PCDD	Polycholorodibenzodioxines	PCDF	Polychlorodibenzofuranes
POD/PODIQD	*Point Of Departure/Point Of Departure Index*	QD	Quotient de danger
RfD	*Reference Dose* (VTR de l'US EPA pour la voie orale)	RPF	*Relative Potency Factor* (facteur de toxicité relative)
TEF/TEQ	*Toxic Equivalent Factor/Quantity*	TU/TUS	*Toxic Unit/Summation*
US EPA	*United States Environmental Protection Agency*	VTR	Valeur toxicologique de référence

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.

Références

1. NRC. *Risk assessment in the federal government: managing the process*. Washington (DC) : National Academy Press, 1983.

2. Glorennec P, Ismert M, Ronga-Pezeret S, *et al*. Objectifs et résultats attendus d'une évaluation des risques sanitaires. *Environ Risque Sante* 2012 ; 11 : 240-2. doi: 10.1684/ers.2012.0541.

3. Hannas BR, Lambright CS, Furr J, Howdeshell KL, Wilson VS, Gray LE. Dose-response assessment of fetal testosterone production and gene expression levels in rat testes following in utero exposure to diethylhexyl phthalate, diisobutyl phthalate, diisoheptyl phthalate, and diisononyl phthalate. *Toxicol Sci* 2011 ; 123 : 206-16.

4. Jensen BH, Petersen A, Christiansen S, *et al*. Probabilistic assessment of the cumulative dietary exposure of the population of Denmark to endocrine disrupting pesticides. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 55 : 113-20.

5. Ineris. *Évaluation de l'état des milieux et des risques sanitaires. Démarche intégrée pour la gestion des émissions de substances chimiques par les installations classées*. Verneuil-en-Halatte : Ineris, 2013. www.ineris.fr/

6. Ineris. *Évaluation des risques sanitaires dans les études d'impact des ICPE*. Verneuil-en-Halatte : Ineris, 2003. www.ineris.fr/

7. SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks). *Opinion on risk assessment on indoor air quality Indoor air RA*. Brussels : SCHER, 2007. http://ec.europa.eu/

8. RIVM, ICPS, Anses. *Toxicological data analysis to support grouping of pesticide active substances for cumulative risk assessment of effects on liver, on the nervous system and on reproduction and development*. Supporting Publications: EN-392; 2013. www.efsa.europa.eu/publications

9. EFSA. *Cumulative risk assessment of pesticides to human health: the way forward*. Parma (Italy) : EFSA, 2006. www.efsa.europa.eu

10. Loewe S, Muischnek H. Effect of combinations: mathematical basis of problem. *Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie* 1926 ; 114 : 313-26.

11. Kortenkamp A, Altenburger R. Approaches to assessing combination effects of oestrogenic environmental pollutants. *Sci Total Environ* 1999 ; 233 : 131-40.

12. US EPA. *Guidelines for the health risk assessment of chemical mixtures*. Vol. 51. Washington (DC) : US EPA, 1986.

13. Haddad S, Tardif R, Viau C, Krishnan K. A modeling approach to account for toxicokinetic interactions in the calculation of biological hazard index for chemical mixtures. *Toxicol Lett* 1999 ; 108 : 303-8.

14. Lee SL, Shih HT, Chi YC, Li YP, Yin SJ. Oxidation of methanol, ethylene glycol, and isopropanol with human alcohol dehydrogenases and the inhibition by ethanol and 4-methylpyrazole. *Chem Biol Interact* 2011 ; 191 : 26-31.

15. Soni M, Mehendale H. Hepatic failure leads to lethality of chlordecone-amplified hepatotoxicity of carbon tetrachloride. *Fundam Appl Toxicol* 1993 ; 21 : 442-50.

16. ATSDR. *Guidance manual for the assessment of joint toxic action of chemical mixtures*. Atlanta : ATSDR, 2004. www.atsdr.cdc.gov/

17. Kortenkamp A, Faust M, Backhaus T. *State of the art report on mixture toxicity*. Brussels : European Commission, 2009. http://ec.europa.eu/environment/index_fr.htm

18. Sprague JB. Measurement of pollutant toxicity to fish. II. Utilizing and applying bioassay results. *Water Res* 1970 ; 4 : 3-32.

19. Ahlborg U, Becking G, Birnbaum L, *et al*. Toxic equivalency factors for dioxin-like PCBs. *Chemosphere* 1994 ; 28 : 1049-67.

20. Safe S. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): biochemistry, toxicology, and mechanism of action. *Crit Rev Toxicol* 1984 ; 13 : 319-95.

21. Safe S, Bandiera S, Sawyer T, *et al*. PCBs: structure-function relationships and mechanism of action. *Environ Health Perspect* 1985 ; 60 : 47-56.

22. CalEPA. *Technical support document. report on chlorinated dioxins and dibenzofurans. part b - health effects of chlorinated dioxins and dibenzofurans*. Berkeley (California) : CalEPA, 1986.

23. US EPA. *Health assessment document for polychlorinated dibenzo-p-dioxins*. Washington (DC) : US EPA, 1985.

24. King-Heiden TC, Mehta V, Xiong KM, *et al*. Reproductive and developmental toxicity of dioxin in fish. *Mol Cell Endocrinol* 2012 ; 354 : 121-38.

25. Eadon G, Kaminsky L, Silkworth J, *et al*. Calculation of 2,3,7,8-TCDD equivalent concentrations of complex environmental contaminant mixtures. *Environ Health Perspect* 1986 ; 70 : 221-7.

26. US EPA. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. 4th edition. Cincinnati (Ohio) : US EPA, 1993.

27. Barnes D, Alford-Stevens A, Birnbaum L, Kutz FW, Wood W, Patton D. Toxicity equivalency factors for PCBs? *Qual Assur* 1991 ; 1 : 70-81.

28. Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, *et al*. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 2006 ; 93 : 223-41.

29. Van den Berg M, Birnbaum L, Bosveld T, *et al*. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect* 1998 ; 106 : 775-92.

30. Haws LC, Su SH, Harris M, *et al*. Development of a refined database of mammalian relative potency estimates for dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 2006 ; 89 : 4-30.

31. Albert RE, Lewtas J, Nesnow S, Thorslund TW, Anderson E. Comparative potency method for cancer risk assessment: application to diesel particulate emissions. *Risk Anal* 1983 ; 3 : 101-17.

32. US EPA. *Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons*. Washington (DC) : US EPA, 1993.

33. US EPA. *Supplementary guidance for conducting health risk assessment of chemical mixtures*. Washington (DC) : US EPA, 2000.

34. US EPA. *Office of Pesticide Programs Science Policy on the use of data on cholinesterase inhibition for risk assessments of organophosphorous and carbamate pesticides*. Washington (DC) : US EPA, 2000.

35. US EPA. *1996 Food quality protection act: draft implementation plan. Prevention, pesticides and toxic substances (7506C)*. Washington (DC) : US EPA, 1997.

36. FIFRA. *A case study of the cumulative risk of 24 organophosphate pesticides*. Arlington (Virginia) : FIFRA, 2000. www.epa.gov/

37. OPP-US EPA. *Health Effects Division (7509C). Cumulative risk: A case study of the estimation of risk from 24 organophospate pesticides*. Washington (DC) : OPP-US EPA, 2000.

38. US EPA. *Organophosphorus cumulative risk assessment - 2006 Update*. Washington (DC) : US EPA, 2006.

39. Wilkinson CF, Christoph GR, Julien E, *et al*. Assessing the risks of exposures to multiple chemicals with a common mechanism of toxicity: how to cumulate? *Regul Toxicol Pharmacol* 2000 ; 31 : 30-43.

40. US EPA Risk Assessment Forum. *Benchmark dose technical guidance document*. Washington (DC) : US EPA, 2000.

41. WHO/IPCS. *Assessment of combined exposures to multiple chemicals: report of a WHO/IPCS international workshop on aggregate/cumulative risk assessment*. Geneva : WHO, 2009.

42. Sarigiannis D, Hansen U. Considering the cumulative risk of mixtures of chemicals - a challenge for policy makers. *Environmental health: a global access science source* 2012 ; 11 (S1) : S18.

43. Kortenkamp A, Faust M. Combined exposures to anti-androgenic chemicals: steps towards cumulative risk assessment. *Int J Androl* 2010 ; 33 : 463-74.

44. Howdeshell KL, Wilson VS, Furr J, *et al*. A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner. *Toxicol Sci* 2008 ; 105 : 153-65.

45. Søeborg T, Frederiksen H, Andersson M. Cumulative risk assessment of phthalate exposure of Danish children and adolescents using the hazard index approach. *Int J Androl* 2012 ; 35 : 245-52.

46. Borg D, Lund BO, Lindquist NG, Håkansson H. Cumulative health risk assessment of 17 perfluoroalkylated and polyfluoroalkylated substances (PFASs) in the Swedish population. *Environ Int* 2013 ; 59 : 112-23.

47. Nisbet IC, LaGoy PK. Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regul Toxicol Pharmacol* 1992 ; 16 : 290-300.

48. Ineris. *Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs). Évaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes : Approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique - FET) et approche par mélanges. Évaluation de la relation dose-réponse*. Verneuil-en-Halatte : Ineris, 2003. www.ineris.fr

49. Audebert M, Zeman F, Beaudoin R, Péry A, Cravedi JP. Comparative potency approach based on H2AX assay for estimating the genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012 ; 260 : 58-64.

50. Wolansky MJ, Gennings C, Crofton KM. Relative potencies for acute effects of pyrethroids on motor function in rats. *Toxicol Sci* 2005 ; 89 : 271-7.

51. Bosgra S, Van der Voet H, Boon PE, Slob W. An integrated probabilistic framework for cumulative risk assessment of common mechanism chemicals in food: an example with organophosphorus pesticides. *Regul Toxicol Pharmacol* 2009 ; 54 : 124-33.

52. JMPR. *Monographs of toxicological evaluations. Joint Meeting on Pesticide Residues*. Geneva : World Health Organisation, 2007. www.inchem.org/pages/jmpr.html

53. Müller AK, Marvin HJP, Hart A, *et al*. Probabilistic cumulative risk assessment of anti-androgenic pesticides in food. *Food Chem Toxicol* 2009 ; 47 : 2951-62.

54. Benson R. Hazard to the developing male reproductive system from cumulative exposure to phthalate esters–dibutyl phthalate, diisobutyl phthalate, butylbenzyl phthalate, diethylhexyl phthalate, dipentyl phthalate, and diisononyl phthalate. *Regul Toxicol Pharmacol* 2009 ; 53 : 90-101.

55. Christiansen S, Kortenkamp A, Axelstad M, *et al*. Mixtures of endocrine disrupting contaminants modelled on human high end exposures: an exploratory study in rats. *Int J Androl* 2012 ; 35 : 303-16.

[56]. Christiansen S, Scholze M, Dalgaard M, *et al*. *Environ Health Perspect* 2009 ; 117 : 1839-46.

Copyright © 2022 John Libbey Eurotext. Téléchargé par EHESP ECOLE DES HAUTES ETUDES le 28/11/2022.