

Les mélanges de contaminants :

Est-on capable d'en évaluer les risques ?

- ▶ Jean-Pierre CRAVEDI
Directeur de Recherches
UMR1331 TOXALIM, Toulouse



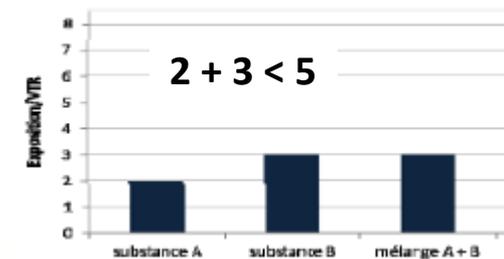
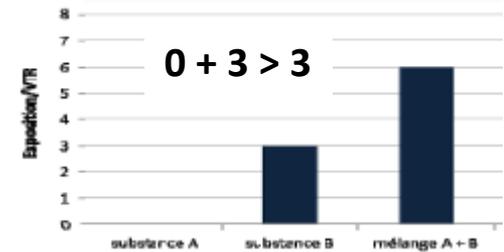
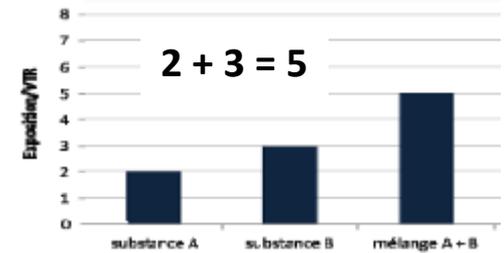
Les mélanges: les principaux cas de figure

EFFET ADDITIF = Effet égal à la **somme des effets** de chaque produit pris individuellement (aucune interaction directe)

POTENTIALISATION = **Accroissement de la dangerosité** d'un produit toxique par une substance n'ayant habituellement pas d'effet toxique

EFFET SUPRA-ADDITIF = **Effet plus grand que la somme des effets** produit par chacun des constituants du mélange

EFFET INFRA-ADDITIF = **Effet moins grand que la somme des effets** produit par chacun des constituants du mélange

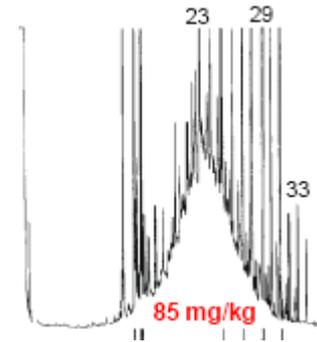


Classification des mélanges dans l'analyse de risque

Evaluation des mélanges

Mélange entier

Ex : PCB, HAP, huiles minérales



Chromatogramme d'hydrocarbures saturés présents dans le gras humain (EFSA, 2012)

Substance par substance

Additivité des doses

Sans interaction

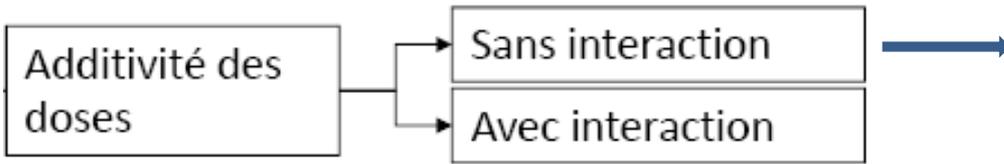
Avec interaction

Additivité des réponses

Sans interaction

Avec interaction

Principales méthodes d'évaluation des risques liés à l'exposition aux mélanges



- **Indice de risque (HI)**
- Indice du risque cumulé (CRI)
- Méthode de la dose de toxicité sur l'organe cible (TTD)
- **Marge d'exposition (MOE)**
- Point de départ (PODI)
- Facteur d'équivalence toxique (TEFs)
- Facteur de puissance relative (RPFs)

$$HI = \sum_{i=1}^n \frac{EL_i}{AL_i}$$

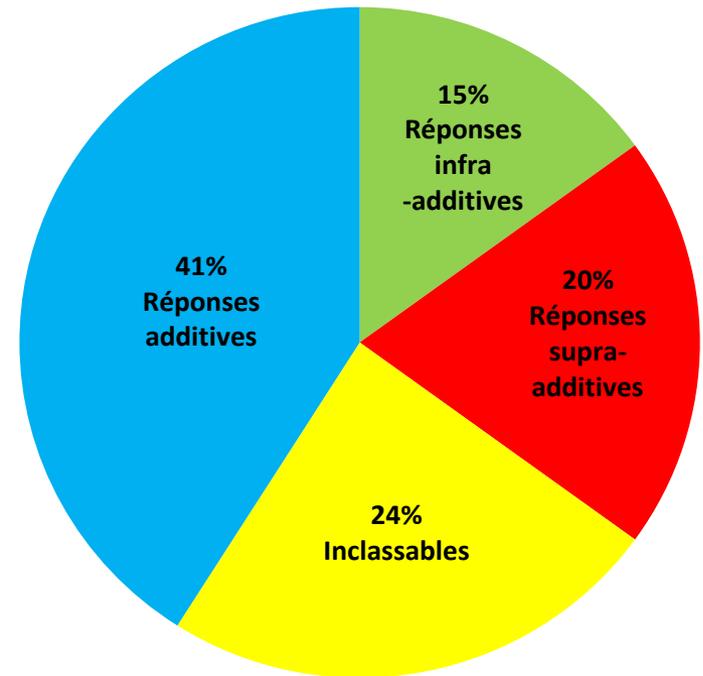
EL = Niveau d'exposition
AL = Seuil acceptable
n = nombre de constituants du mélange

Interaction de base
HI
Poids de preuve binaire (BINWOE)

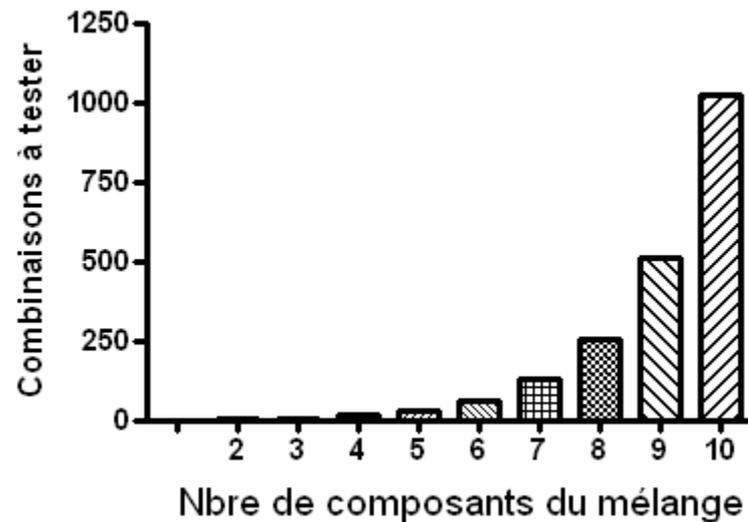
Si HI > 1, la concentration (ou la dose) totale des constituants du mélange dépassent le niveau acceptable

Les mélanges : l'analyse de la littérature

Pohl et al. (2009) ont analysé 380 publications traitant des **mélanges binaires** publiées au cours des 15 années précédentes; 156 cas de d'effets additifs, 76 cas d'effets supra-additifs (synergie) et 57 cas d'effets infra-additifs (antagonisme) ont été identifiés. Dans 91 cas, l'information n'était pas suffisante pour classer l'effet.



Les combinaisons à tester : un obstacle majeur si l'on procède conformément à la toxicologie conventionnelle



La contribution de l'INRA à la problématique:

- **Caractérisation de l'exposition aux mélanges**
- **Peut-on prédire les effets du mélange à partir des effets de ses constituants ?**

Panorama des recherches menées à Toulouse, Sophia Antipolis, Dijon, en collaboration avec l'ANSES, l'Université, l'INSERM, l'EHESP.

Analyse de pesticides sur des échantillons humains

- > **Liste de pesticides** dans le cadre de l'exposition (principalement aérienne) de la cohorte **PELAGIE**
Cartographie des cultures en Bretagne entre 2000-2005
Enquête sur les traitements phytosanitaires réalisés sur ces cultures

47 pesticides (19 familles)

- > **Liste de métabolites**

Bibliographie du métabolisme des pesticides recherchés
Métabolites théoriques de phase II

386 métabolites



- > **Analyse en spectrométrie de masse haute résolution des échantillons d'urine**

Extraction des signaux à partir des données brutes
Métabolites confirmés par l'expérimentation animale

433 molécules recherchées : pesticides + métabolites

- > **7 pesticides identifiés**

Dont l'azoxystrobine et le fenpropimorphe, 2 fongicides utilisés en mélange dans les cultures de céréales.

Caractérisation des mélanges de pesticides auxquels la population française est exposée (PERICLES : ANSES-INRA)

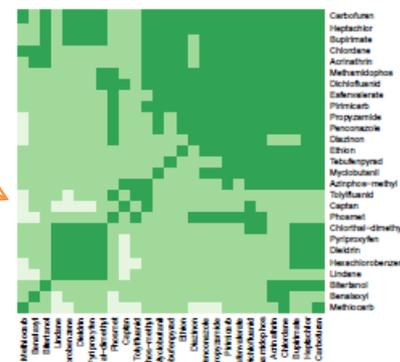
Modèle statistique



Population générale



Groupes d'individus ayant des expositions élevées aux pesticides (sur la bases des données de consommation alimentaire et de contamination des denrées)



Corrélations fortes entre les pesticides

PERICLES: Identification de 7 mélanges de pesticides

Crépet et al., sous presse

Cocktail 1	Cocktail 2	Cocktail 3	Cocktail 4	Cocktail 5	Cocktail 6	Cocktail 7
Diphenylamine	Linuron	Fenitrothion	λ -Cyhalothrin	DDT	Maleic hydrazide	Imazalil
Tolyfluanid	Chlorfenvinphos	Quinoxyfen	Iprodione	Dieldrin	Chlorpropham	Methidathion
Phosalone	Ethion	Fenhexamid	Procymidone			
Propargite		Triadimenol	Cyprodinil			
Captan		Pyrimethanil	Fludioxonil			
		Penconazole				

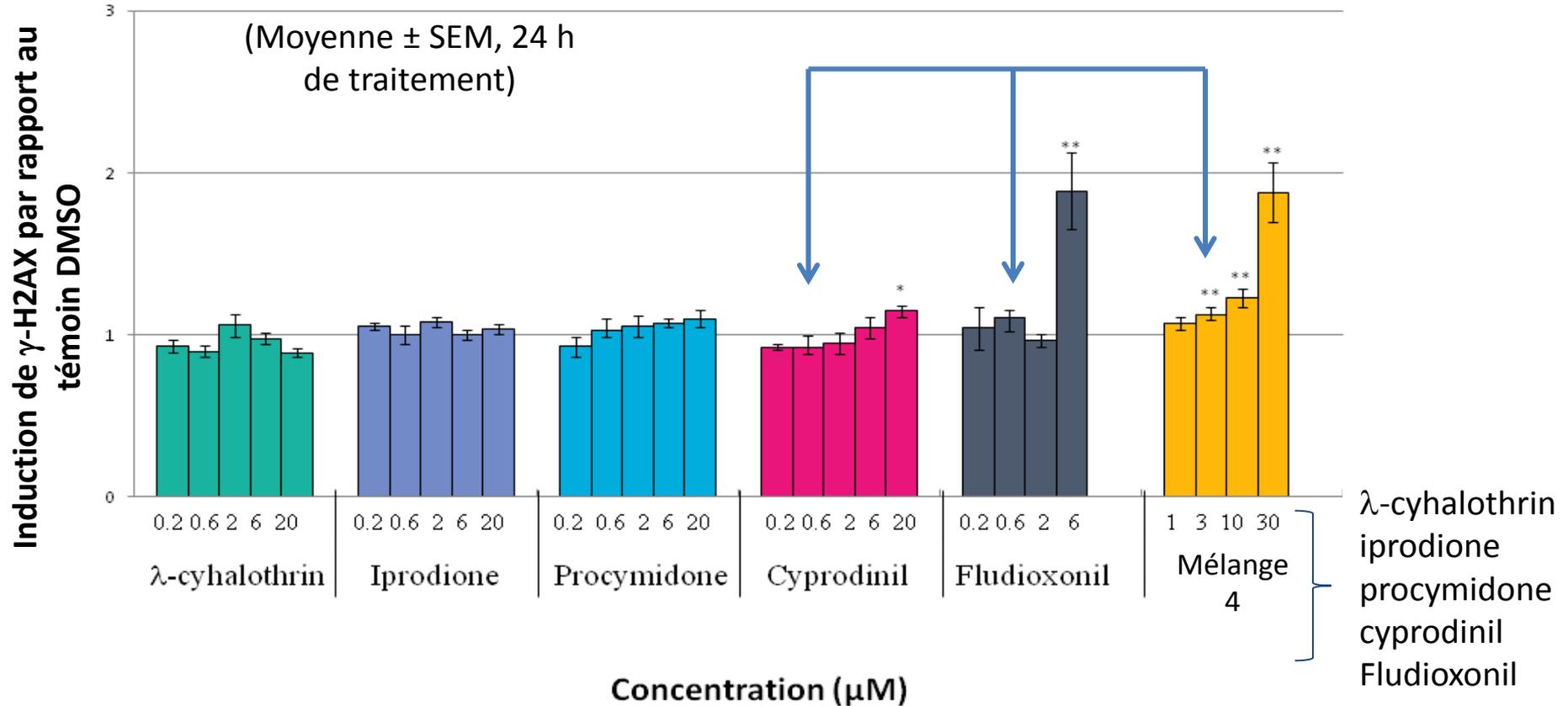


25 pesticides différents parmi lesquels :

- 14 pesticides autorisés / **11 aujourd'hui interdits**

Génotoxicité des pesticides constituant le mélange 4 seuls et en mélange sur la lignée hépatocytaire HepG2

Graillet et al., 2012



Effets sur le métabolome de pesticides seuls ou en mélange

5 LOTS :

- Témoin
- Atrazine (**A**) 0.025 mg/kg aliment
- Chlorpyrifos (**C**) 0.050mg/kg
- Endosulfan (**E**) 0.030 mg/kg
- Mixture (**ACE**) (0,025+0,50+0,030)

Doses basées sur la DJA

L'alimentation au sevrage est identique à celle des mères

5 groupes de souris C57 BL6



Gestation

Naissance

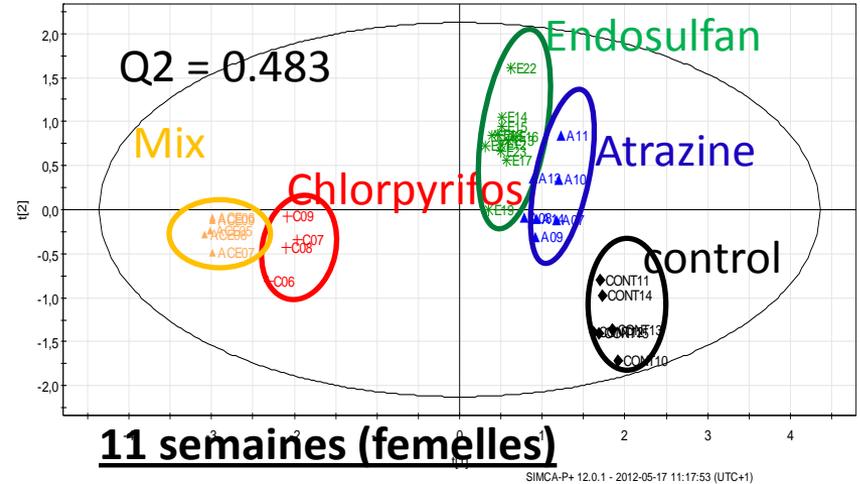
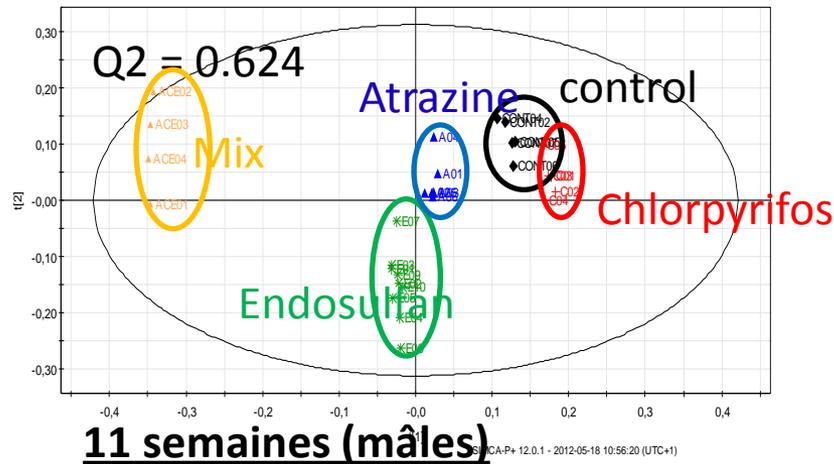
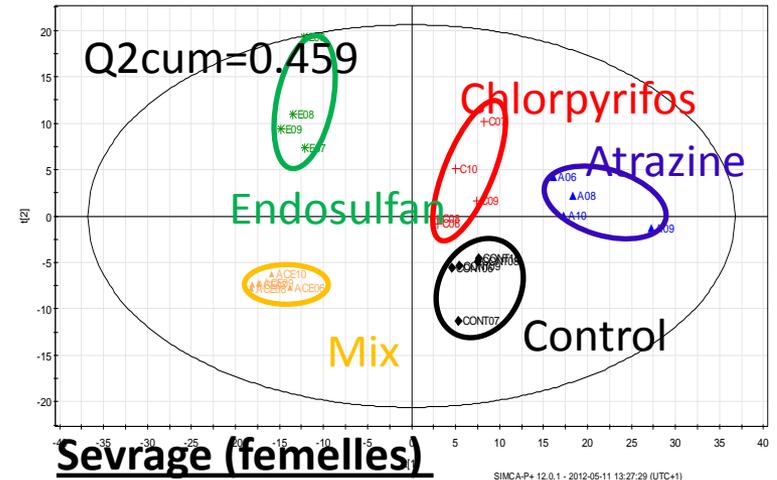
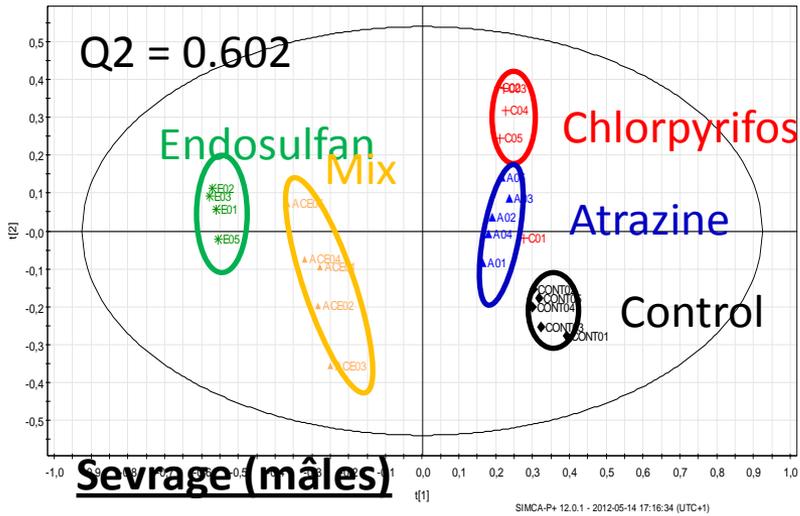
Lactation

Sevrage : sacrifice d'une partie des animaux

11 semaines

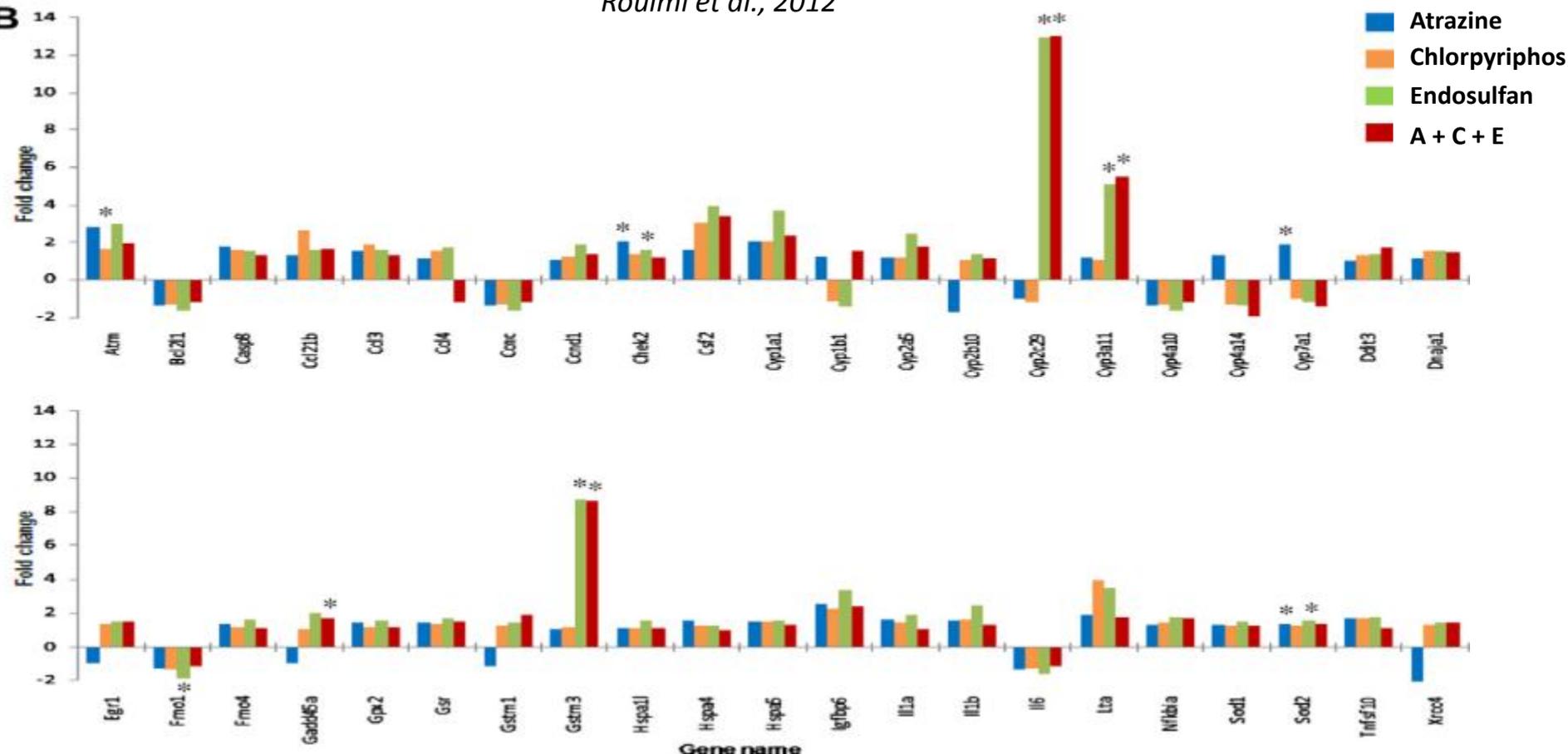
Sacrifice des animaux

Empreinte plasmatique (RMN)



Analyse transcriptomique de l'effet des mélanges de pesticides chez la souris (hépatocytes)

Rouimi et al., 2012



Effet sur la qualité du sperme d'une exposition *in utero* et lactationnelle à de faibles doses de génistéine et de vinchlozoline chez le rat

D'après Eustache et al.,
Environ Health Perspect
117:1272–1279 (2009).

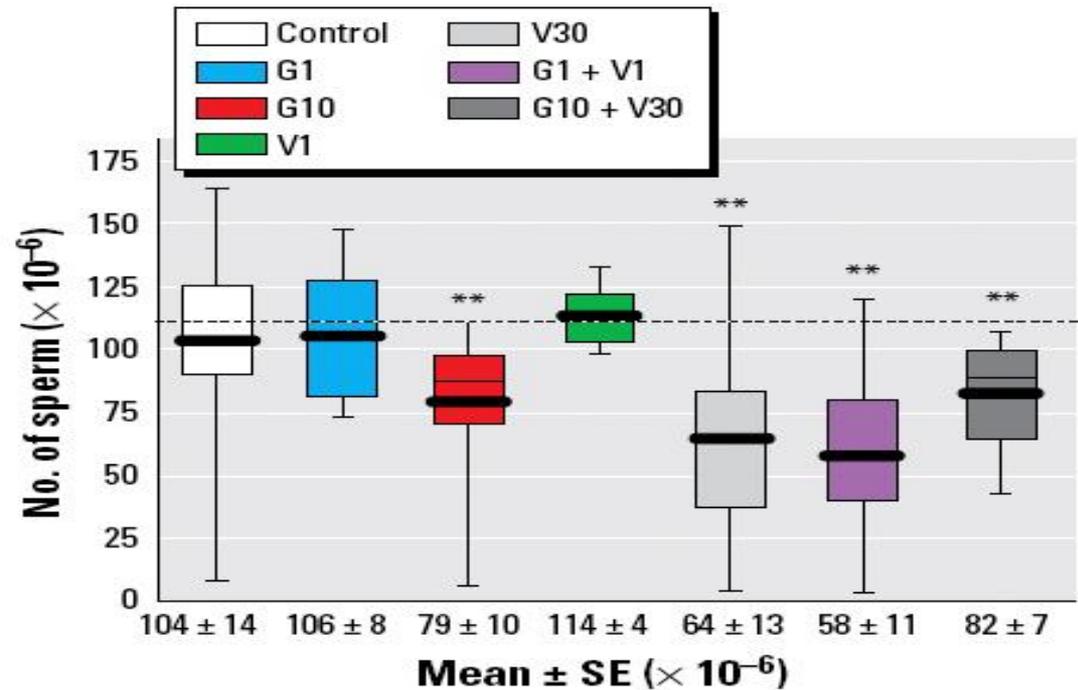
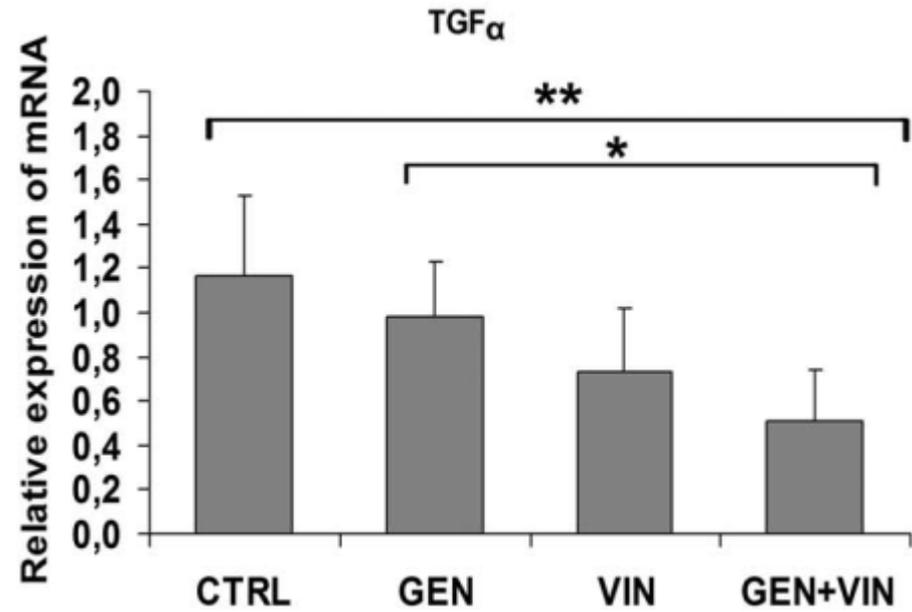
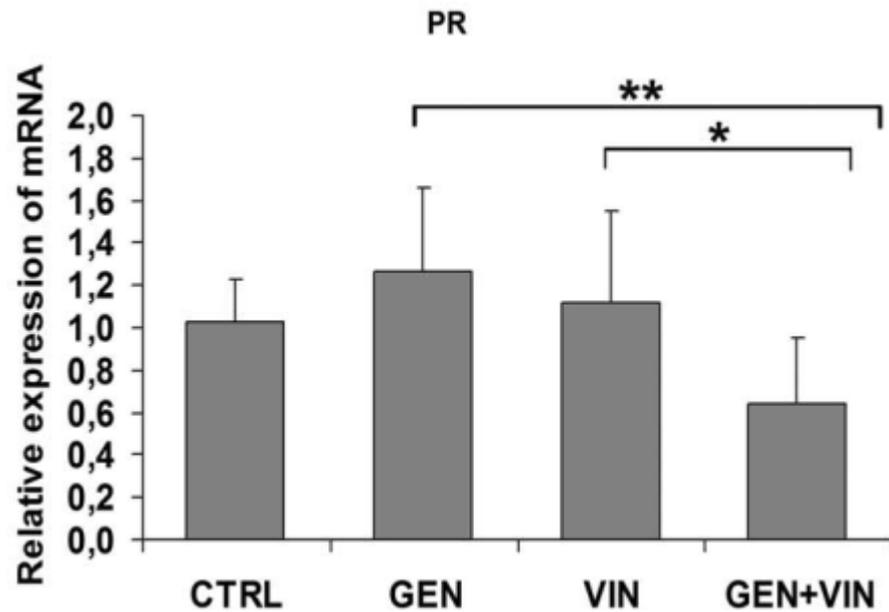


Figure 2. Box plot displaying 10th, 25th, 50th, 75th, and 90th percentile values and the mean value (thick line) of epididymal (cauda) sperm number in rats on PND80. The most pronounced differences in sperm count compared with controls were in the V30 and G1 + V1 groups.

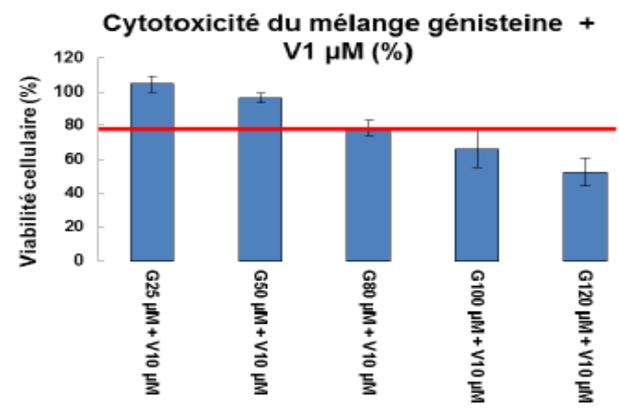
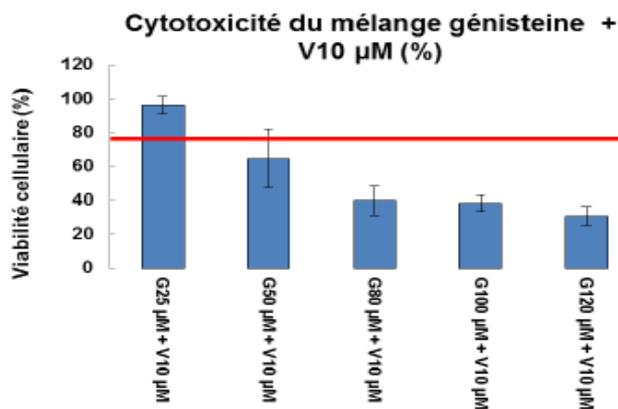
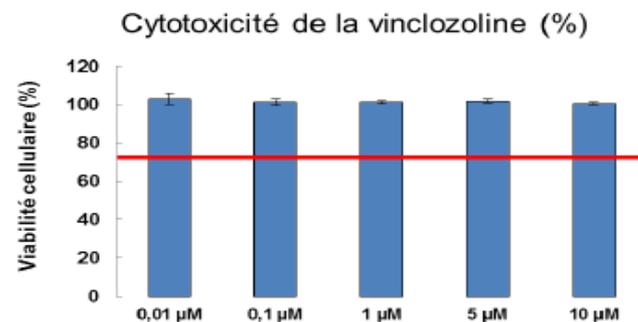
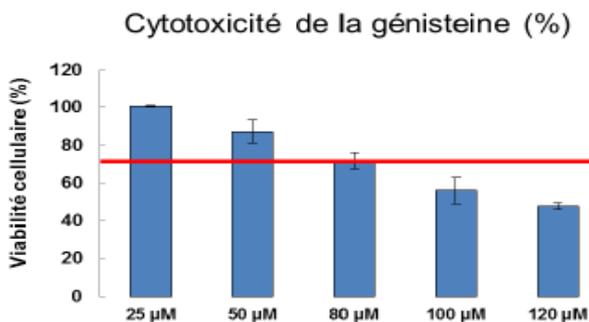
** $p < 0.05$ compared with controls.

Effet d'une exposition périnatale à de faibles doses de génistéine et de vinchlozoline sur la glande salivaire submandibulaire chez la ratte

Kouidhi et al., 2012



Cytotoxicité de la génistéine et de la vinchlozoline sur la différenciation adipocytaire (test du rouge neutre)



Facteurs d'équivalence génotoxique pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques

Audebert et al., 2012

Compound	Genotoxicity	Relative Potency
	Equivalent Factor GEF	Factor ^a RPF
BaA	0.5	0.2
BaP	1	1
BbF	1.5	0.8
BcF	0.5	20
BghiP	0.1	0.009
BkF	1	0.03
Chr	0.3	0.1
IP	0.2	0.07
DBahA	2	10
DMBA	10	<i>n.d.</i>
DBalP	25	30
Fla	0.001	0.08
Pyr	0.001	0

^a d'après l'US-EPA

Conclusions

- Des méthodes d'évaluation du risque lié aux mélanges de contaminants chimiques ont été développées. Elle reposent principalement sur le principe de l'additivité des effets.
- Affiner l'appréciation du risque nécessite :
 - une meilleure caractérisation des mélanges auxquels le consommateur est exposé
 - Une meilleure connaissance du mode d'action des constituants des mélanges
 - Des outils de criblage à haut débit permettant la réalisation d'un grand nombre de tests (par exemple par des approches « omiques »)
 - La modélisation des données obtenues
 - L'intégration dans ces modèles de données de toxicocinétiques incluant la biotransformation des différents constituants
- L'INRA est mobilisé sur la plupart de ces fronts de sciences, en particulier sur des mélanges de perturbateurs endocriniens, de pesticides ou de composés génotoxiques.



Merci de votre attention

et merci à M Audebert, L Debrauwer, E Jamin, L Payrastre, C Helies, R Rahmani, P Rouimi, V Grailot, M-C Canivenc, S Boudalia & JF Narbonne qui m'ont fourni quelques données ou figures

