

Évaluation de modèles d'additivité pour l'analyse de risque de substances en mélange

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Kannan KRISHNAN et Michelle GAGNÉ

Université de Montréal – Département de santé environnementale et santé au travail – Montréal - Canada

Mots clés : Additivité, Infra-additivité, Interactions, Mélange, Risque cumulatif, Supra-additivité

Cette note d'actualité scientifique présente deux articles qui traitent des modèles mathématiques permettant d'évaluer la toxicité et le risque associés à l'exposition à des produits chimiques en mélange. L'analyse de risque des mélanges est fréquemment basée sur les modèles d'additivité des doses⁽¹⁾ (AD) et d'additivité des réponses⁽²⁾ (AR). Le modèle AD considère que chaque substance intervient dans la toxicité du mélange de manière proportionnelle à son efficacité et à sa dose et s'appuie sur la prémisse que les substances testées agissent sur la même cible cellulaire, selon un mécanisme similaire, mais avec des potentiels d'amplitude différents (Calabrese, 1991). En revanche, dans le modèle d'AR, la réponse d'un mélange est estimée par la fraction des réponses reliée aux substances individuelles qui le composent. Ce deuxième modèle se base sur le principe que les substances d'un mélange agissent indépendamment les unes des autres (Calabrese, 1991). L'utilisation des modèles d'additivité (AR et AD) pour l'analyse de risque des substances en mélange est toutefois limitée. Entre autres, ces modèles sont déterministes⁽³⁾, i.e. qu'ils ne considèrent pas la variabilité ou l'incertitude associées aux paramètres, particulièrement celles des valeurs de références et de l'exposition. De plus, il n'est pas rare que l'application des modèles AR et AD ne soit pas possible pour certains mélanges à cause de l'absence de valeurs de références ou normes pour une ou plusieurs substances les constituant.

Comme il est difficile de déterminer lequel des modèles, AR ou AD, est le plus approprié pour interpréter les résultats d'études toxicologiques, l'analyse de l'applicabilité de ces modèles devrait se faire dans des études systématiques, comme celle de **Stavenes-Andersen et al. (2009)**. Ces derniers s'intéressent aux types d'interaction des substances en mélange sur des effets neurotoxiques *in vitro*. De leur côté, **Price et Wiltshire (2009)** proposent l'application de l'approche probabiliste⁽⁴⁾ avec les modèles AD et AR afin de surmonter les limites de l'approche actuelle. Leur étude traite plus particulièrement de la modélisation des effets chroniques non-cancérogènes de substances migrantes de certains emballages alimentaires. À notre connaissance, il s'agit de la première publication à introduire une approche probabiliste dans l'analyse de risque sanitaire associé aux mélanges contenant des composantes sans valeurs de références ou normes.

Les effets du méthylmercure combiné à des biphenyles polychlorés et à des agents ignifuges bromés sur la recapture du glutamate par les synaptosomes de rat : une approche mathématique de l'étude des mélanges

Analyse

Stavenes-Andersen et al. (2009) ont étudié l'effet du méthylmercure (MeHg) combiné à des biphenyles polychlorés (BPC) et/ou à des agents ignifuges bromés (BFR). Ils ont choisi, plus particulièrement, de travailler avec différents BFR (tétrabromobisphénol A (TBBPA), de hexabromocyclododécane (HBCD), DE71 et BPC (Aroclor1254, PCB153). Les auteurs ont vérifié la prédictibilité des modèles Löewe (AD) et Bliss (AR) quant à la nature des interactions au sein des mélanges. Les effets de ces substances ont été mesurés au niveau de la recapture du glutamate par les synaptosomes⁽⁵⁾ de rat. Les expérimentations sur les synaptosomes ont été faites avec les substances individuelles ou en mélanges de deux ou trois substances (i.e.,

mélanges binaires ou ternaires). Tout d'abord, l'analyse des effets des substances seule a permis de déterminer que toutes inhibent la recapture du glutamate dans les synaptosomes de manière dose-dépendante et que le MeHg a des effets hautement plus inhibiteurs ($EC_{25}^{(6)}$: 0,16 μ M), comparativement aux autres substances testées (EC_{25} : [0,5 – 6,6] μ M). Ensuite, des synaptosomes ont été exposés à des concentrations différentes de six mélanges binaires. Ces derniers étaient composés de MeHg et d'un des six composés et basés sur les EC_{25} (ratio 1:1). Les résultats ont démontré des effets additifs, bien qu'une tendance synergique ait été observée. Quant au mélange ternaire, dont les concentrations et les proportions, était semblable à celles retrouvées dans les poissons du lac Mjøsa en Norvège (soit des ratios 1:39 (MeHg : BPC153) et 1:6 (MeHg : DE71)), l'effet du mélange était aussi de nature additive. Les auteurs ont finalement comparé toutes ces données expérimentales à leurs prédictions mathématiques (AD et AR) basées sur les courbes dose-réponses des composées individuelles. Ces dernières concordaient avec les résultats expérimentaux des expositions des synaptosomes aux mélanges (tant binaires que ternaires), toutefois, le modèle AR

a permis des prédictions plus justes pour les mélanges binaires (MeHg-CB153, MeHg-DE71 ou MeHg-HBCD), alors que le modèle AD prédisait mieux le mélange MeHg-TBBPA.

Commentaire

La pertinence de l'étude de **Stavenes-Andersen et al. (2009)** réside principalement dans le fait qu'ils ont reproduit, dans leur mélange ternaire, une composition réaliste de contaminants auxquelles les humains sont exposés. L'expérimentation réalisée avec ce mélange reconstitué ne permet toutefois pas d'évaluer si la concentration utilisée *in vitro* est représentative d'une exposition alimentaire dans la population générale. De plus, les résultats présentés permettent une compréhension de la toxicodynamique, mais pas de la toxicocinétique (absorption, distribution, métabolisme, excrétion) et la correspondance *in vitro-in vivo* de leurs résultats est inconnue.

Il faut aussi noter que dans l'article de **Stavenes-Andersen et al. (2009)**, certains des composés utilisés et considérés comme substances pures dans le contexte expérimental (HBCD, DE71 et Aroclor1254) sont, en réalité, des mélanges commerciaux contenant plusieurs congénères.

Modélisation des effets chroniques non-cancérogènes de mélanges de migrants des emballages alimentaires grâce à l'utilisation des classes Cramer et des modèles quantitatifs d'incertitude

Analyse

L'étude de **Price et Wiltshire (2009)** présente un outil quantitatif qui permettrait l'évaluation de la toxicité non-cancérogène des mélanges, particulièrement des substances migrantes (qui entre en contact avec la nourriture *via* les emballages) qui n'ont pas de normes établies. En effet, l'utilisation des classes de Cramer⁽⁷⁾ permet de combler les lacunes inhérentes aux données toxicologiques : les substances qui n'ont pas de normes peuvent être caractérisées par une valeur estimée de dose sans effet toxique (DNEL⁽⁸⁾) sur la base des caractéristiques structurelles (Munro *et al.*, 1996). Une fois les DNEL obtenues pour les composants sans norme, l'étude compare l'utilisation de l'approche traditionnelle déterministe et l'approche probabiliste, tout en utilisant AD et AR pour caractériser la toxicité des mélanges. L'approche probabiliste se base sur les distributions pour intégrer l'incertitude occasionnée par l'utilisation de ces valeurs estimées. **Price et Wiltshire (2009)** ont choisi d'utiliser les valeurs du 5^e percentile de ces distributions, afin d'avoir des valeurs conservatrices et protectrices de DNEL. L'article présente, entre autres, l'application de ces outils d'évaluation pour un mélange de six composés ayant migré dans l'eau contenue dans une bouteille de polypropylène (Skjevraak *et al.*, 2005). Parmi ces contaminants, un seul possède une norme établie par un organisme de régulation (dibutyl phthalate). **Price et Wiltshire (2009)** ont donc prédit pour les autres contaminants (di-isobutyl

phthalate; éthyle-4-éthoxybenzoate; 2,4-di-tert-butylphenol; benzoate d'éthyle et 4-éthylbenzaldéhyde) des valeurs de DNEL qui considèrent la fraction molaire des substances au sein du mélange (mDNEL). Les valeurs prédites, tant par l'approche déterministe (0,014 et 0,020 mg/kg pour le modèle AD ou AR, respectivement) que par l'approche probabiliste (0,040-11 mg/kg), étaient supérieures à celles des échantillons expérimentaux (par ex. : la dose maximale mesurée expérimentalement étant de 0,0074 mg/kg). Ces résultats suggèrent qu'il est improbable que la toxicité collective des migrants représente un risque pour la santé des consommateurs.

Commentaire

Cette étude est la première à tenir compte de l'incertitude dans la caractérisation de la toxicité et le calcul de l'indice de danger de mélanges en utilisant des distributions de valeurs. L'emploi du concept relié aux classes de Cramer est aussi une innovation par le fait qu'il permet une analyse de risque dans les cas où les valeurs de normes ou de références sont inexistantes pour certains composants du mélange. Contrairement à l'approche normalement employée qui calcule un indice de danger pour chaque effet critique, les auteurs de cet article ont considéré un seul indice pour toutes les substances et effets du mélange. Cette approche conservatrice, sera donc surtout appropriée lors d'évaluation préliminaire.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les articles analysés dans la présente note présentent des développements récents dans l'analyse de risque et toxicologique des substances en mélange. Tout d'abord, **Stavenes-Andersen et al. (2009)** ont souligné qu'il faut utiliser à la fois les modèles AD et AR tant que les mécanismes d'action relatifs aux effets critiques des substances composant un mélange sont inconnus. Ensuite, l'article de **Price et Wiltshire (2009)** a démontré qu'il est possible d'utiliser l'information liée à la structure des substances et d'effectuer une analyse de risque pour les mélanges en considérant l'incertitude contenue dans ces estimations.

Lexique

- (1) Additivité des doses (AD) : approche utilisée pour l'évaluation des mélanges quand les composantes agissent par le même mécanisme d'action, mais avec des potentiels d'amplitude différents. Selon ce concept, la toxicité des mélanges est déterminée par la somme des ratios des doses d'exposition et des doses effectives des composantes.
- (2) Additivité des réponses (AR) : selon cette approche, la réponse d'un mélange est prédictible par la fraction des réponses des substances individuelles qui le composent. Ce modèle se base

sur le principe que les substances d'un mélange agissent indépendamment les unes des autres.

- (3) **Modèle déterministe**: modèle mathématique dans lequel la résultante est déterminée de manière précise selon des relations préétablies. Pour les mêmes intrants, un modèle déterministe donnera toujours le même résultat.
- (4) **Modèle probabiliste**: les modèles probabilistes utilisent des intrants sujets à des variations (i.e. une étendue de valeurs) ce qui permet d'estimer une distribution des résultats possibles.
- (5) **Synaptosome**: l'extrémité terminale isolée d'un axone de neurone, donc une membrane cytoplasmique contenant les protéines synaptiques.
- (6) **EC₂₅**: concentration efficace médiane, i.e. la concentration qui provoque une réponse biologique égale à 25 % de la dose maximale attendue.
- (7) **Classes de Cramer**: les classes de Cramer permettent de regrouper les substances en trois catégories d'effets non-cancérogènes, à partir de leurs structures moléculaires. Il existe trois classes, soit (i) les substances dont la structure et les données suggèrent une faible toxicité orale; (ii) les substances intermédiaires et (iii) les substances pour lesquelles il y a apparence de toxicité significative.
- (8) **DNEL**: valeur estimée de doses sans effet toxique (derived no effect levels).

Publications analysées

Price P, Wiltshire G. Modelling the chronic non-cancer effects of mixtures of migrants using Cramer classes and quantitative models of uncertainty. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 2009; 26(12):1547-55.

Stavenes Andersen I, Voie OA, Fonnum F et al. Effects of methyl mercury in combination with polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants on the uptake of glutamate in rat brain synaptosomes: a mathematical approach for the study of mixtures. *Toxicol. Sci* 2009; 112(1):175-84.

Publications de référence

Calabrese EJ. Multiple Chemical Interactions. Lewis Publishers. 1991.

Munro IC, Ford RA, Kennepohl E et al. Correlation of structural class with no-observed-effect levels: a proposal for establishing a threshold of concern. *Food Chem. Toxicol.* 1996; 34(9):829-67.

Skjevrak I, Brede C, Steffensen I et al. Non-targeted multicomponent analytical surveillance of plastic food-contact materials: Identification of substances not included in EU positive lists and their risk assessment. *Food Addit. Contam.* 2005; 22(10):1012-22.

Publications non sélectionnées

Reffstrup TK, Larsen JC, Meyer O. Risk assessment of mixtures of pesticides. Current approaches and future strategies. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2010; 56(2):174-92.

Cette publication ne contient pas de nouvelles données ni sur la toxicité ni sur le risque à la santé relié aux pesticides en mélanges. Cependant il présente une bonne revue des différentes méthodes d'analyse de risque applicables aux mélanges de pesticides.

Saddik B, Williamson A, Black D et al. Neurobehavioral impairment in children occupationally exposed to mixed organic solvents. *Neurotoxicology.* 2009; 30(6):1166-71.

Cette étude transversale confirme, jusqu'à un certain point, que l'exposition dépassant la valeur limite d'exposition de solvants organiques est associée aux effets neurocomportementaux chez l'enfant. L'utilité des observations rapportées dans cette étude, est limitée et pourrait être questionnée quant à la population étudiée (enfant-travailleurs, expositions excédant les normes pour les mélanges).

Schilmann A, Lacasaña M, Blanco-Muñoz J et al. Identifying pesticide use patterns among flower growers to assess occupational exposure to mixtures. *Occup. Environ. Med.* 2010; 67(5):323-9.

Cet article porte sur le profil d'usage des mélanges de pesticides et non pas sur leurs toxicités.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Additivity, Antagonism, Co-exposure, Cumulative risk, Interaction, Mixture, Occupational, Potentiation, Synergism, Worker.