

ENSP

ÉCOLE NATIONALE DE
LA SANTÉ PUBLIQUE

RENNES



afssa

AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Ingénieur du génie sanitaire

Promotion 2006-2007

Date du Jury : 27 septembre 2007

**Eléments d'évaluation des risques sanitaires liés à la
présence conjointe de couples de substances
dans les eaux destinées à la consommation humaine**

Présenté par :

M^{elle} Delphine VIRIOT

Lieu du mémoire :

AFSSA – Maisons-Alfort

Référents professionnels :

M^{me} Nathalie ARNICH

M. Laurent GRIMAULT

Référent pédagogique :

M^{me} Barbara LE BOT

Remerciements

Je tiens à remercier chaleureusement Nathalie Arnich et Laurent Grimault pour leur investissement et la confiance qu'ils m'ont accordée tout au long du mémoire, et Mostafa Ould-Elhkim et Eric Barthélémy pour leurs conseils avisés au cours du travail.

Je remercie Delphine Caamaño et Jean-Marc Frémy pour m'avoir permis de travailler au sein de leurs unités respectives : « Unité d'évaluation des risques liés à l'eau » et « Unité d'évaluation des risques physico-chimiques ».

Je suis reconnaissante envers Muriel Eliaszewicz et Marie-Hélène Loulergue pour m'avoir accueillie dans leur direction.

Les membres de l'équipe ont participé au bon déroulement du mémoire : Fernando Aguilar, Audrey Commien, Sébastien Garry, Juliette Hospitalier, Karine Morcet, Rémi Poirier, Georges Popoff et Gwenn Regnault, ainsi que Marie-Claude Deschamps et Odile Bender pour l'encadrement administratif.

Je remercie Barbara Le Bot et Jean Carré de l'École Nationale de la Santé Publique pour leur avis sur l'élaboration du mémoire, et Alban Robin de la Direction Générale de la Santé pour les données de qualité des eaux destinées à la consommation humaine.

Mes remerciements s'adressent dans un même temps aux experts du groupe de travail « Evaluation des risques liés aux situations de dépassement des limites et références de qualité dans les eaux destinées à la consommation humaine » et en particulier Alain Baert (Centre Antipoison de Rennes), Claude Casellas (Faculté de Pharmacie de Montpellier), Michel Joyeux (Eau de Paris) et René Seux (ENSP Rennes).

SOMMAIRE

Introduction	1
1. Contexte et objectifs	3
2. Principe d'une évaluation des risques sanitaires liés à un mélange	4
2.1. Spécificités de la problématique.....	4
2.1.1. Formulation du problème	4
2.1.2. Les instances et documents de travail	4
2.1.3. Définitions et concepts.....	5
2.2. Méthodologies d'évaluation des risques.....	7
2.2.1. Principe général des méthodologies actuelles.....	7
2.2.2. Méthodologies à partir des données relatives à un mélange	7
2.2.3. Méthodologies à partir des données relatives aux substances individuelles	8
a. Pertinence de la méthode.....	8
b. Additivité des doses.....	9
c. Additivité des réponses	12
d. Interactions.....	13
e. Utilisation des modèles mécanistiques.....	17
f. Synthèse	17
2.2.4. Mise en pratique.....	18
2.3. Incertitudes	25
3. Données d'exposition conjointe en France.....	26
3.1. Objectifs	26
3.2. Méthode.....	26
3.3. Résultats.....	27
3.3.1. Nombre d'unités de distribution et population associée	27
3.3.2. Classement des couples de substances.....	30
4. Dangers liés à une exposition au couple arsenic/antimoine	32
4.1. Comparaison et mise en évidence des effets sanitaires communs.....	32
4.1.1. Synthèse des points communs et différences	32
4.1.2. Comportement dans l'organisme	34
4.1.3. Effets toxiques.....	36
4.2. Etudes toxicologiques conjointes.....	37
4.2.1. Méthodes et résultats.....	37
4.2.2. Représentativité des concentrations expérimentales	39
4.2.3. Etudes de terrain.....	40
4.3. Pertinence de mener une évaluation des risques	41
5. Proposition d'une démarche d'évaluation des risques	42
5.1. Connaissances sur les risques liés aux mélanges dans les eaux de consommation	42
5.2. Identification des couples prioritaires	44
5.3. Proposition d'une méthodologie : choix, étapes et limites	45
5.4. Perspectives.....	48
Conclusion	51
BIBLIOGRAPHIE	53
GLOSSAIRE.....	61
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	63
ANNEXES.....	1

Liste des sigles utilisés

ACGIH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists
AESA : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments
ADN : Acide Désoxyribonucléique
ATSDR : Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BINWOE : Binary Weight-Of-Evidence
BMD : Benchmark Dose
DGS : Direction Générale de la Santé
DMA : Acide diméthylarsonique
DMEO : Dose Minimale avec un Effet Observé
DMSEO : Dose Maximale Sans Effet nocif Observable
EFSA : European Food Safety Authority
ERU : Excès de Risque Unitaire
HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HI : Hazard Index
HQ : Hazard Quotient
INSPQ : Institut National de Santé Publique du Québec
IRIS : Integrated Risk Information System
ISS : Integral Search System
LOAEL : Lowest-observed-adverse-effect level
MMA : Acide monométhylarsonique
MN : Micronucléus
MRL : Minimal Risk Level
MT: Metallothionéine
NHEERL : National Health and Environmental Effects Research Laboratory
NIOSH : National Institute of Occupational Safety and Health
NCEA : National Center for Environmental Assessment
NOAEL : No-observed-adverse-effect level
NTP : National Toxicology Program
ORP : Observatoire des Résidus de Pesticides
OSHA : Occupational Safety and Health Administration
PBPD : Physiologically-based pharmacokinetic
PBPK : Physiologically-based pharmacodynamic
PCB-DL : Polychlorobiphényle-Dioxine-Like
RfD : Reference Dose
RPF : Relative Potency Factor
SCE : Sister Chromatid Exchange
SISE-Eaux : Système d'Information en Santé-Environnement sur les Eaux
TEF : Toxic Equivalency Factor
TTD : Target-Organ Toxicity Dose
UDI : Unité de Distribution
US-EPA : United States-Environmental Protection Agency
VTR : Valeur Toxicologique de Référence
WOE : Weight-Of-Evidence

Introduction

Les limites et références de qualité dans les eaux destinées à la consommation humaine sont fixées par l'arrêté du 11 janvier 2007¹ pris en application du code de la santé publique. Leur vérification régulière est un des outils réglementaires permettant de garantir la sécurité sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine.

Les directives de l'OMS sur la qualité de l'eau de boisson indiquent que « *les valeurs guides ont été calculées séparément pour chaque substance présente, sans tenir compte spécialement des interactions possibles avec les autres substances. Toutefois, la majorité des valeurs guides comporte une large marge de sécurité qui est jugée suffisante pour tenir compte de ces interactions potentielles.* » (OMS, 2004). Cette organisation souligne l'importance de décider des mesures à prendre en fonction des circonstances locales dans le cas où des contaminants ayant des effets toxicologiques voisins sont présents à des concentrations proches ou dépassant les valeurs guides.

En cas de déversement dans l'eau de plusieurs substances, l'OMS précise qu'il est pertinent de déterminer si ces substances peuvent interagir. Lorsqu'un mécanisme d'action similaire est identifié, il est recommandé de considérer les effets comme additifs (OMS, 2006).

Ces considérations justifient de s'interroger sur la possibilité pour les services déconcentrés de prendre en compte les actions conjointes au sein d'un mélange par la mise en pratique de méthodes d'évaluation des risques liés à une exposition à plusieurs substances. L'enjeu est d'autant plus perceptible suite au constat selon lequel certains départements du territoire français sont concernés par des dépassements de limites et références de qualité pour plusieurs substances².

Dans le cadre de travaux sur les risques sanitaires liés au dépassement des limites et références de qualité dans l'eau de boisson, l'Afssa a formulé des interrogations relatives à la présence simultanée de substances, plus particulièrement pour le couple arsenic/antimoine (Afssa, 2007).

Des méthodologies d'évaluation des risques liés à une exposition conjointe à plusieurs substances sont proposées par différentes instances. De fortes incertitudes concernent d'une part, la connaissance des effets sanitaires issus des actions potentielles au sein de mélanges de substances et d'autre part, la mise en pratique de telles méthodes.

L'objectif du présent mémoire est de mener une réflexion sur les éléments nécessaires à une évaluation des risques sanitaires pour des couples de substances afin de mettre en évidence les incertitudes et proposer une démarche adaptée au domaine des eaux destinées à la consommation humaine.

Ce rapport comporte cinq parties en correspondance avec les étapes du travail.

La première partie présente le contexte et permet de situer la problématique. Le cœur du rapport s'attache en deuxième partie à expliciter les spécificités des méthodologies actuelles d'évaluation des risques afin d'envisager leur mise en pratique sur un couple de substances, présent en dépassement dans les eaux de consommation. L'exposition de la population française à des dépassements conjoints est déterminée en troisième partie à l'échelon national en utilisant les données de la base Sise-Eaux du Ministère de la Santé.

Une quatrième partie souligne les interrogations sur la possibilité et la pertinence de mener une évaluation des risques liés à la présence du couple de substances arsenic/antimoine.

Un plan de travail est proposé en dernière partie afin de permettre à l'évaluateur d'identifier les éléments nécessaires et les incertitudes associées au choix d'une méthodologie et à sa mise en œuvre.

¹ Relatif aux limites et références de qualité mentionnées aux articles R.1321-2, R.1321-3, R.1321-7 et R.1321-28 du code de la santé publique (JO du 6 février 2007)

² Données Sise-Eaux de la Direction Générale de la Santé (1999-2006)

1. Contexte et objectifs

1.1. Contexte

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments est un établissement public indépendant de veille, d'alerte et d'expertise sur les risques sanitaires et nutritionnels créée suite à la loi du 1^{er} juillet 1998 et placée sous la tutelle des Ministères de la Santé, de l'Agriculture et de la Consommation.

Dans le cadre de la saisine de la Direction Générale de la Santé du 17 avril 2003, l'Afssa a émis les recommandations d'une part, d'examiner avec attention les demandes de dérogation portant sur plusieurs paramètres sur une même unité de distribution et d'autre part, d'effectuer un recensement des unités pour lesquelles des pluridépassements ont été observés afin d'identifier les risques et préserver la santé des usagers.

Dans le cadre de cette problématique, les objectifs actuels du groupe de travail créé par l'Afssa sont d'identifier les couples pertinents à l'échelon national en fonction de l'exposition de la population, de comprendre les effets associés à ces couples et de proposer une méthode pour s'orienter vers une évaluation des risques.

1.2. Objectifs

L'objectif principal du mémoire est de mener une réflexion sur les éléments nécessaires à la réalisation d'une évaluation des risques sanitaires pour des couples de substances dans les eaux de boisson.

Pour atteindre cet objectif, il s'agit de recenser et critiquer les démarches proposées par d'autres instances et d'identifier une démarche adaptée au domaine des eaux destinées à la consommation humaine.

Une réflexion essentielle du mémoire porte sur la faisabilité d'une telle démarche et sur l'analyse critique nécessaire des données scientifiques.

Le mémoire se propose ainsi de répondre aux interrogations suivantes :

- quelles sont les actions conjointes des mélanges de substances ?
- comment définir ces actions en termes de risques pour la santé ?
- quelles sont les méthodologies d'évaluation des risques développées actuellement et leur intérêt pour une application dans le domaine de l'eau de boisson ?
- le couple arsenic/antimoine présente-il un danger ?
- quels critères sont pertinents pour identifier les couples prioritaires à l'échelon national ?
- quelle démarche peut être proposée pour mener une évaluation des risques sanitaires pour un couple de substances dans les eaux destinées à la consommation humaine ?

A plus long terme, ce travail sera utile en vue de proposer un outil à la Direction Générale de la Santé pour aider les autorités sanitaires locales en cas de dépassement des limites et références de qualité pour plusieurs substances.

2. Principe d'une évaluation des risques sanitaires liés à un mélange

En évaluation des risques liés à un mélange de substances, une des principales spécificités de la problématique est l'existence potentielle d'actions conjointes susceptibles de modifier le danger associé à chacune des substances composant le mélange.

Lorsque les niveaux d'exposition individuels sont inférieurs aux valeurs limites réglementaires, mener une évaluation des risques par rapport au mélange peut aussi permettre la mise en évidence de phénomènes d'additivité ou d'interactions susceptibles d'amplifier le danger.

Cette partie s'intéresse aux spécificités de la problématique et à l'aspect méthodologique de la démarche d'évaluation des risques liés à des mélanges de substances.

Elle n'a pas pour objet de faire un état des lieux exhaustif mais permet d'explicitier la problématique, de cibler les interrogations actuelles sur le sujet et de proposer par la suite une méthode adaptée au domaine des eaux destinées à la consommation humaine.

Les objectifs de cette deuxième partie sont les suivants :

(i) identifier les conséquences sanitaires des actions conjointes au sein d'un mélange de substances (ii) synthétiser les étapes des méthodes d'évaluation des risques proposées par différentes instances (iii) situer la problématique dans le contexte actuel : interrogations et perspectives.

2.1. Spécificités de la problématique

2.1.1. Formulation du problème

Lors d'une exposition à deux substances, un danger sanitaire potentiel lié à ce couple est à considérer dès lors que les substances sont présentes conjointement selon les deux cas suivants :

- les deux substances ont des mêmes mécanismes d'action et organes cibles
- la présence d'une substance sans effet tend à modifier l'effet toxique d'une autre substance

En l'état actuel des connaissances, la détermination de seuils de gestion adaptés en fonction de dangers conjoints identifiés est difficile à appréhender.

L'intérêt du travail sera de mettre en évidence les spécificités et les incertitudes des méthodes d'évaluation des risques pour une application au cas particulier de mélanges de substances dans les eaux destinées à la consommation humaine.

Pour atteindre les objectifs fixés, il a été procédé à l'étude de documents proposés actuellement par différentes instances scientifiques internationales.

2.1.2. Les instances et documents de travail

Les guides méthodologiques publiés par l'Environmental Protection Agency (US-EPA, 2000) et l'Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR, 2004) ont été les principaux documents de référence consultés pour cette analyse.

Ces travaux font référence à des programmes actuels de recherches. Des groupes de travail sont coordonnés par l'EPA rassemblant aux Etats-Unis le National Center for Environmental Assessment (NCEA) et le National Health and Environmental Effects Research Laboratory (NHEERL).

Le guide de l'ATSDR s'inscrit dans un programme intitulé « Chemical mixtures program » démarré en 1996 et mandaté pour déterminer les conséquences d'expositions à des combinaisons de substances au niveau de sites pollués.

D'autres agences américaines travaillent sur le sujet (NIOSH, OSHA et ACGIH) et définissent des critères sanitaires et des lignes directrices pour les mélanges et leurs substances. Les guides utilisés tiennent compte des orientations de ces travaux.

Un appel à projets organisé par Santé Canada en 1998 a également conduit à mettre en évidence le caractère prioritaire du thème des risques liés aux effets cumulatifs des substances toxiques.

En Europe, l'organisation d'un colloque en février 2007 par l'AESA a permis de rassembler les équipes de recherche travaillant sur ce thème et de poser les interrogations et les avancées nécessaires sur le sujet.

La problématique de l'évaluation des risques liés aux mélanges est un sujet récent dont les résultats reposent en grande partie sur des travaux de la recherche en particulier en toxicologie.

Les travaux menés actuellement s'articulent autour des principaux thèmes suivants :

- identification et priorisation des substances préoccupantes
- évaluation des effets des actions conjointes des substances identifiées
- développement de nouvelles méthodes d'évaluation des risques

Dans ce contexte, l'intérêt des guides choisis est de proposer une vue d'ensemble de la problématique et de faire un état des lieux critique centré sur les méthodes actuelles.

Cette vue d'ensemble sera analysée pour proposer une démarche spécifiquement adaptée aux eaux de consommation.

Compte tenu de la grande diversité des informations relatives au thème des mélanges, l'analyse des documents est ciblée sur les points suivants :

- Définitions et concepts
- Méthodologies
- Incertitudes

2.1.3. Définitions et concepts

Les travaux actuels s'intéressent à développer et valider des méthodologies innovantes pour évaluer les risques associés à une exposition conjointe à des mélanges préoccupants de substances chimiques.

Dans le cadre de la problématique, les termes utilisés sont spécifiques. Il est en ce sens utile de s'intéresser à leur signification pour aborder le sujet.

2.1.3.1. Notion de mélange

La notion de mélanges chimiques peut être définie selon deux critères :

Un premier critère est relatif au nombre de substances composant le mélange.

Un mélange est l'association de deux substances ou plus au niveau d'un espace commun conduisant à l'exposition conjointe d'une population donnée.

Un mélange est dit simple lorsqu'il correspond à l'association d'un nombre inférieur à 10 de substances identifiées et quantifiées.

Un mélange est dit complexe lorsque le nombre de substances est plus important et est tel qu'il peut être difficile de caractériser complètement le mélange.

Un second critère s'intéresse à la nature et aux propriétés chimiques des substances composant le mélange.

Un mélange est dit semblable (« similar mixture ») lorsque les substances ont des propriétés chimiques similaires, sont présentes dans les mêmes proportions et sont supposées avoir des voies, mécanismes et effets sanitaires semblables.

Un mélange est dit défini (« defined mixture ») lorsque des substances émises au niveau d'un point spatio-temporel précis ont une composition connue mais peuvent avoir des propriétés dissemblables.

Un mélange est dit coïncident (« coincidental mixture ») lorsque les substances sont présentes de façon permanente au niveau d'un même espace mais peuvent avoir des propriétés dissemblables (Sexton et Hattis, 2007).

En termes de santé publique, la notion d'actions conjointes au sein du mélange est fondamentale car elle peut conduire à une modification du risque par rapport à celui attendu suite aux effets individuels des substances.

2.1.3.2. Terminologie des actions conjointes

Une démarche classique consiste à définir les termes à partir des résultats observés dans les études de toxicité des mélanges. Les actions conjointes sont classées selon qu'il y a interaction ou non et que l'action est semblable ou dissemblable (Plackett et Hewlett, 1952).

Cependant, les terminologies utilisées sont discutées car elles conduisent à une certaine confusion entre les définitions des mélanges et des effets associés. Une même action conjointe peut être définie par plusieurs expressions.

En pratique, ces notions abstraites d'actions conjointes peuvent être utilisées et se décliner en différents types de définitions.

Pour définir les actions conjointes au sein d'un mélange, les termes suivants sont utilisés en évaluation des risques (Plackett et Hewlett, 1952 ; US-EPA, 2000 ; Danish veterinary and food administration, 2003) et synthétisés dans le tableau 1.

Actions conjointes sans interaction :

Le terme d'**additivité** est utilisé lorsque l'effet du mélange correspond à la somme des effets individuels des substances.

Additivité des **doses** : lorsque les substances exercent un mode d'action semblable.

Additivité des **réponses** : lorsque les substances exercent des actions indépendantes l'une de l'autre.

Actions conjointes avec interaction :

Le terme d'interaction est utilisé lorsque l'effet du mélange diffère de l'additivité des effets individuels.

Synergisme : lorsque l'effet du mélange est supérieur à celui évalué par addition des effets individuels.

Potentialisation : lorsqu'une substance sans effet sur une cible donnée tend à augmenter l'effet toxique d'une autre substance pour cette même cible.

Antagonisme : lorsque l'effet du mélange est inférieur à celui évalué par addition des effets individuels.

Inhibition : lorsqu'une substance sans effet sur une cible donnée tend à diminuer l'effet toxique d'une autre substance pour cette même cible.

Tableau 1 : synthèse des actions conjointes des substances d'un mélange
(D'après US-EPA, 2000)

Type d'interaction	Effets	Action conjointe	
Sans interaction	additivité des doses	action semblable simple	
	additivité des réponses	action dissemblable simple = action indépendante	
	sans influence apparente	pas d'action conjointe	
Avec interaction	plus que l'additivité	synergisme	action semblable complexe
		potentialisation	action dissemblable complexe
	moins que l'additivité	antagonisme	action semblable complexe
		inhibition	action dissemblable complexe

Ces actions conjointes étant liées à la notion de *mode d'action* des substances du mélange, il semble utile d'explicitier plus précisément ce terme.

Un mode d'action est défini comme un ensemble d'événements entre un contaminant et une cellule et conduisant à la survenue d'un effet susceptible d'altérer la santé (US-EPA, 2000). Ce mode d'action s'exprime au travers de différents mécanismes d'action de type induction ou inhibition de protéines, altération de récepteurs et membranes cellulaires, modulation d'effet etc.

En l'état actuel des connaissances, ces concepts sont utilisés pour élaborer les méthodologies d'évaluation des risques liés aux mélanges.

2.2. Méthodologies d'évaluation des risques

2.2.1. Principe général des méthodologies actuelles

Les méthodes recommandées par les guides sont fonction du type de données disponibles. L'utilisation des données relatives au mélange est fortement recommandée dès lors qu'elles sont disponibles. Si les données relatives au mélange ne sont pas adaptées, ce qui est fréquent, l'évaluation des risques doit être basée sur les données relatives à chaque substance du mélange (US-EPA, 2000 ; ATSDR, 2004).

En l'état actuel des connaissances, selon l'US EPA, les méthodes d'évaluation issues de ces concepts restent valables tant que des études toxicologiques n'auront pas montré significativement leur inexactitude.

2.2.2. Méthodologies à partir des données relatives à un mélange

Si des données sont disponibles pour le mélange, deux situations sont à envisager dans l'ordre de préférence suivant : utilisation de données directes sur le mélange préoccupant et/ou sur un mélange semblable.

Concernant ce type d'évaluation, les éléments suivants sont à retenir :

- Les méthodes proposées par les guides s'appliquent à des mélanges spécifiques d'un site ou d'une zone d'émission commune. Dans ces situations, les évaluations sont menées en considérant le mélange comme une entité individuelle sur laquelle une méthode classique d'évaluation peut être appliquée.
- En l'état actuel des connaissances, les méthodes d'évaluation ne sont pas spécifiques d'une matrice (eau, air, sol). Par contre, l'évaluation doit prendre en compte des aspects spécifiques du milieu : biodisponibilité des contaminants, stabilité du mélange et écarts entre mélanges préoccupants dans l'environnement et ceux testés en laboratoire.

- Dans le domaine des eaux de consommation, ces méthodologies ne peuvent pas être appliquées à un échelon national. En effet, l'utilisation d'une approche à partir d'un mélange défini sera spécifique à une unité de distribution (UDI) et devra être reconduite pour chaque nouveau site. Cette démarche n'est donc pas envisageable dans le cadre défini de cette réflexion.

Cette étude s'intéresse aux risques sanitaires liés à la présence conjointe de substances dans l'eau. Si la nature des substances étudiées est définie, les niveaux et proportions du mélange peuvent varier considérablement d'un site à l'autre.

Dans le cadre de cette étude, il ne s'agit donc pas de conduire une évaluation des risques pour chaque mélange spécifique d'un site mais de proposer une démarche générale pour évaluer les risques sanitaires liés à un mélange de substances identifiées avec des quantités et des proportions susceptibles de varier.

Il est également à noter que le mémoire s'intéresse uniquement à des mélanges simples de substances de familles distinctes dans les eaux de boisson. Ceux-ci se différencient des mélanges classiques de substances d'une même famille de type pesticides, HAP ou dioxines pour lesquels des méthodes sont actuellement mises en pratique.

Les méthodologies proposées par les guides ne sont pas applicables directement : des adaptations sont nécessaires pour proposer une démarche. L'alternative proposée dans le présent mémoire consiste à mener une réflexion sur les éléments nécessaires pour réaliser une évaluation en supposant un mélange simple constitué de deux substances.

2.2.3. Méthodologies à partir des données relatives aux substances individuelles

Les méthodologies sont présentées en suivant les deux grands axes suivants : additivité ou interactions au sein du mélange (US-EPA, 2000 ; ATSDR, 2004).

Il est important de noter que l'approche diffère selon l'existence ou non d'un seuil d'apparition de l'effet induit par les substances du mélange.

Dans le cas des composés où il n'est pas possible de définir à priori un seuil sans effet, l'hypothèse d'additivité des réponses est souvent utilisée mais est discutée (US-EPA, 2000 ; ATSDR, 2004). Il est important de noter que les méthodologies actuelles ne permettent pas une évaluation fiable des risques liés à des substances sans seuil exerçant des actions synergiques.

Dans le cas des composés pour lesquels il est possible de définir un seuil en dessous duquel il n'y a pas d'effet toxique observé, l'ensemble des autres méthodes proposées est applicable avec les incertitudes associées.

a. Pertinence de la méthode

Mener une évaluation des risques à partir des données individuelles des substances du mélange est recommandée pour des mélanges relativement simples (10 substances ou moins) et bien identifiés du point de vue de leur composition (US-EPA, 2000).

Les points suivants sont à retenir :

- L'US-EPA admet qu'un mélange constitué de peu de composés (moins de 10) et pour lesquels les valeurs limites individuelles déterminées à partir d'arguments sanitaires ne sont pas dépassées ne présente à priori pas un risque significatif pour la santé.
- Cependant, dans le cas d'exposition associée à peu de substances, la probabilité d'actions significatives au sein du mélange ne peut être écartée et est fonction croissante des doses. Dans ce cas, une évaluation des risques est recommandée (US-EPA, 2000).

Pour les substances exerçant un même effet, une exposition conjointe peut conduire à une amplification du danger : une évaluation par additivité des doses doit être proposée même pour des substances à faibles doses.

Afin de mesurer la pertinence de l'évaluation menée sur un mélange, il est recommandé de décrire le niveau d'incertitude des données utilisées et de justifier le choix des hypothèses d'additivités ou d'interactions (US-EPA, 2000).

b. Additivité des doses

Deux méthodes basées sur une hypothèse d'**additivité des doses** ont été retenues :

- méthode de l'indice de danger
- méthode du facteur d'équivalence toxique

Les points suivants sont abordés : conditions d'application, principe, exemples d'utilisation, avantages et limites.

b.1. Méthode de l'indice de danger (« Hazard index HI »)

La méthode de base la plus utilisée pour évaluer un risque sanitaire lié à un mélange de substances est celle de l'indice de danger (« Hazard Index HI »). Cette approche est basée sur l'hypothèse d'additivité des doses (Svendsgaard et Hertzberg, 1994).

Celle-ci présuppose une action semblable simple du mélange telle que les substances agissent par un même mécanisme d'action.

Conditions d'application

Cette méthode ne s'applique qu'aux substances caractérisées par un seuil d'effet toxique, exerçant un même mécanisme d'action et/ou ayant un organe cible commun (ATSDR, 2004 ; Teuschler et Hertzberg, 1995).

Cette méthode est utilisée pour une voie d'exposition unique et un seul effet toxique.

L'emploi de cette méthode est justifié si :

- les relations dose-réponse des effets communs retenus sont connues
- un niveau maximal acceptable est défini pour chaque substance pour l'effet considéré (par exemple une dose journalière tolérable DJT)

Cette méthode est particulièrement recommandée pour des substances ayant des profils toxicologiques similaires permettant d'identifier des mécanismes communs (ATSDR, 2004).

Cependant, l'absence de données relatives aux mécanismes d'action et à la toxicocinétique peut conduire à appliquer la méthode à des mélanges ayant un organe cible commun. De même, si aucun niveau maximal acceptable n'est défini pour l'effet considéré, il sera à définir par l'évaluateur à partir d'une dose de type dose maximale sans effet nocif observable (DMSEO) ou dose minimale avec un effet observé (DMEO).

Principe

L'indice de danger « Hazard index HI » s'exprime pour un mélange de n substances par la somme de 1 à n :

$$HI = \sum HQ = \sum_{i=1}^n \frac{N_{Ei}}{N_{MAi}} \quad (1)$$

Avec :

HQ : quotient de danger par substance du mélange, N_{Ei} : niveau d'exposition de la substance i, N_{MAi} : niveau maximal acceptable de la substance i

Dans la formule, le niveau maximal acceptable correspond à une valeur toxicologique de référence basée sur un effet critique.

Cependant, lorsque l'évaluation nécessite de dériver des niveaux associés à des effets différents de l'effet critique, la méthode HI peut être utilisée à partir d'une dose différente de la VTR. Cette méthode permet l'évaluation de mélanges dont les substances n'ont pas le même effet critique. Une alternative pratique est donc d'utiliser une dose de toxicité au niveau de l'organe cible (TTD) (Mumtaz *et al.*, 1997). Dans l'équation (1), la TTD remplace la valeur toxicologique de référence. La dose de toxicité (TTD) est dérivée à partir de la valeur maximale de la dose sans effet observé (DMSENO) pour cet organe cible. Si la DMSENO n'est pas disponible, l'utilisation de la dose minimale avec un effet observé (DMEO) est utilisée pour l'effet sanitaire associé.

Le tableau 2 présente les critères d'interprétation de l'indice HI.

Tableau 2 : critères d'interprétation de l'indice « Hazard index HI » (D'après ATSDR, 2004)

Critères	Conclusions	Actions à mener
HI <1 Informations de qualité : définition du N _{MA} , mécanismes d'action, effets conjoints définis, pertinence de l'extrapolation animal-homme	Pas de danger Confiance : forte	-
HI <1 Manque d'information : définition du N _{MA} , mécanismes d'action, effets conjoints non définis, extrapolation animal-homme non pertinente	Absence de danger non démontrée Confiance : faible	Incertitudes à discuter
HI <1 Hypothèse d'additivité des doses non validée	Absence de danger non démontrée En particulier si synergisme supposé	Méthode HI insuffisante Développer la méthode HI avec interactions
HI >1	↑ toxicité potentielle chez l'homme Pas de relation proportionnelle entre ↑ HI et risque	Discuter de la cohérence de la transposition du résultat à l'homme : spécificités des effets Incertitudes à discuter
HI >1 pour plusieurs effets	↑ nombre d'effets tels que HI >1 → ↑ toxicité potentielle	Incertitudes et pertinence du calcul à discuter : La valeur élevée de HI est-elle liée à 1. des N _{MA} à forts facteurs de sécurité ? 2. Peu de N _{MA} à faible facteur d'incertitude ? 3. TTD utilisée à la place de VTR et calculés à partir d'un effet autre que celui associé au HI ?

HI : indice de danger

N_{MA} : niveau maximum acceptable de la substance

VTR : valeur toxicologique de référence

TTD : dose de toxicité au niveau de l'organe cible

Il est recommandé d'appliquer un coefficient de sécurité de 1 à 100 à l'indice en fonction de la confiance accordée aux données disponibles (Seed *et al.*, 1995).

Exemples d'utilisation

Dans le domaine de l'eau, cette méthode a été utilisée afin de prendre en compte les éventuelles actions conjointes pour 120 substances présentes dans les eaux souterraines (Minnesota Department of Health, 2001). Les mélanges testés n'ont pas été cités mais correspondent à des substances ayant un même effet toxique ou organe cible. Les concentrations ne dépassent pas la norme mais il est supposé que l'effet cumulé des substances peut conduire à un risque par additivité des effets (INSPQ, 2006). La démarche est explicitée par le lien internet en bibliographie (Minnesota Department of Health, 2001) et correspond à l'application directe des lignes directrices de l'US-EPA (2000). Il est souligné que son utilisation est effectuée par défaut, faute d'avoir des données suffisantes sur les interactions entre composés.

Avantages et limites

Un des avantages de cette méthode est sa simplicité d'utilisation qui a d'ailleurs conduit à son application fréquente (US-EPA, 2000 ; ATSDR, 2004).

Cependant, il est important de rester vigilant quant aux limites de son utilisation et de son interprétation en termes de risques sanitaires.

En effet, cette méthode ne tient pas compte des interactions entre substances. Une sous-estimation ou surestimation des risques est à envisager puisque des interactions conduisant à des effets plus ou moins qu'additifs entre substances ne sont pas prises en compte.

Par ailleurs, la fiabilité des niveaux maximaux acceptables (VTR ou équivalent) est à discuter : les méthodes de détermination de ces niveaux sont hétérogènes d'un composé à l'autre et il n'existe pas de bases de données communes au niveau international ou national.

Dans le cas où des incertitudes importantes sont identifiées pour une substance, il est pertinent de présenter deux résultats : l'un obtenu par utilisation de tous les niveaux de référence des substances du mélange et l'autre obtenu en ne tenant pas compte des substances pour lesquelles les niveaux de référence ne sont pas fiables.

b.2. Méthode du facteur d'équivalence toxique (« Toxic Equivalency Factor »)

Conditions d'application

Cette méthode est appliquée aux familles de substances exerçant un même mécanisme d'action. Des données sanitaires doivent exister pour une des substances du mélange.

Les facteurs d'équivalence toxique sont déterminés en supposant une additivité des doses et une action des substances par l'intermédiaire d'un récepteur commun selon le même mécanisme d'action toxique.

Il est important de noter que des données sur les mécanismes d'action des substances doivent être disponibles pour les substances du mélange par rapport au composé de référence.

Principe

La comparaison des toxicités relatives des substances avec celle du composé de référence permet d'attribuer à chaque substance un coefficient de pondération appelé facteur d'équivalence toxique (TEF).

Pour évaluer la toxicité du mélange, le facteur est défini selon l'équation suivante :

$$TEQ = \sum_{i=1}^n C_i \cdot TEF_i \quad (2)$$

Avec :

C_i : concentration de la substance i dans le mélange

TEF_i : facteur d'équivalence toxique de la substance i

Le danger associé à un mélange de substances à seuil est estimé par comparaison de la somme exprimée en TEQ avec des valeurs toxicologiques de référence (ATSDR, 2004).

Exemples d'utilisation

Cette méthode a été utilisée pour des composés d'un même groupe : dioxines et PCB-DL (ATSDR, 1998 et 2000 ; US-EPA, 2000).

L'Afssa a appliqué cette méthode pour l'évaluation des risques liés aux HAP présents dans les aliments et dans les eaux de boisson malgré les limites de la démarche pour cette famille (Avis de l'Afssa du 13 octobre 2006³). Cette méthode n'est pas applicable au cas de substances de familles distinctes dans les eaux destinées à la consommation humaine.

Avantages et limites

Cette méthode est particulièrement pertinente dans le cas de substances d'une même famille. Il est important de retenir que cette approche constitue un outil approximatif d'évaluation. La définition du composé de référence est particulièrement délicate. Pour ce composé, des données pertinentes relatives aux effets sanitaires, aux voies et durées d'exposition doivent être disponibles. Lorsque ces critères sont remplis pour plusieurs composés, le choix s'effectue à partir de la représentativité du composé par rapport aux groupes. Le composé le plus toxique est généralement retenu.

c. Additivité des réponses

Conditions d'application

L'hypothèse d'**additivité des réponses** est mise en œuvre lorsque :

- les substances du mélange exercent des effets sur des cibles différentes
- la présence d'une substance ne tend pas à modifier le comportement ou la toxicité d'une autre substance.

La réponse du mélange est évaluée à partir de celles des substances en supposant une indépendance des actions au sein du mélange (US-EPA, 2000 ; ATSDR, 2004).

De telles conditions dépendent fortement des niveaux et voies d'exposition (US-EPA, 2000). Pour des niveaux d'exposition faibles, c'est-à-dire proches de la dose maximale sans effet nocif observable (DMSENO), des substances aux mécanismes différents ne sont pas supposées interagir : il est admis que leurs actions sont indépendantes.

Pour des niveaux d'exposition plus élevés, l'application de formules d'additivité des réponses est moins recommandée étant donnée la probabilité plus élevée d'interactions entre substances.

Cette approche peut être recommandée pour mener une évaluation des risques liés à un mélange de composés cancérigènes génotoxiques (US-EPA, 2000 ; ATSDR, 2004).

Principe

L'US-EPA exprime la réponse attendue suite à une exposition à un mélange, par la formule suivante reposant sur une hypothèse d'indépendance :

$$P_m = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - P_i) \quad (3)$$

Avec

P_m : réponse à une exposition au mélange, P_i : réponse à une exposition à la substance i

En pratique, le risque potentiel du mélange correspond à la somme des risques individuels des substances.

Risque individuel = niveau d'exposition (mg/kg/j) × VTR (mg/kg/j)⁻¹

³ Evaluation de l'exposition aux HAP dans l'eau de boisson et réflexion sur l'éventuel risque sanitaire associé

La valeur toxicologique de référence (VTR) correspond à un excès de risque unitaire. Si la somme des risques pour les substances conduit à un risque total supérieur à 10^{-4} alors le mélange est susceptible de conduire à un risque potentiel (US-EPA, 2000). Il est à noter que le risque acceptable de l'OMS est de 10^{-5} .

Avantages et limites

Un des avantages de cette méthode est son emploi possible pour un grand nombre de substances. Une des limites est la nécessité de connaître la réponse d'un organisme à l'ensemble des substances du mélange.

Cependant, cette méthode comprend une grande part d'incertitudes. Peu d'études se sont intéressées à la validité de ce concept d'additivité des réponses.

Les méthodes précédentes ne prenant pas en compte les interactions entre composés, des approches spécifiques ont été développées.

d. Interactions

Les interactions au sein d'un mélange par couple de substances sont prises en compte en modifiant la méthode de l'indice de danger (« Hazard index HI ») : il s'agit de la méthode « Interactions-HI ».

Deux versions basées sur une hypothèse d'**interactions** ont été retenues :

- méthode originale du « weight-of-evidence »
- méthode modifiée du « weight-of-evidence »

La méthode est ainsi déclinée sous deux versions : l'une développée à l'origine par Mumtaz et Durkin (1992) et l'autre plus récente proposée par Eastern Research Group et Durkin (1995) et US-EPA (2000). *La notion de « weight-of-evidence » correspond au « poids de la preuve », c'est à dire à la convergence de plusieurs données vers un même résultat.*

d.1. Méthode originale du weight-of-evidence (« WOE method »)

Conditions d'application

Il est recommandé que cette méthode soit appliquée pour des substances dont l'organe cible est identique. Une approximation importante de cette méthode est l'absence supposée d'interactions entre un couple de substances A et B et un autre composé C du mélange.

Principe

Le principe est d'évaluer la pertinence des données relatives à une action conjointe pour chaque paire de substances du mélange. Cette méthode propose de classer les couples de substances en fonction du type d'actions communes identifié à partir des informations disponibles pour chaque substance.

Un facteur nommé « weight-of-evidence » (WOE) permet d'identifier l'influence d'une substance sur une autre. Dans le cas d'un mélange de deux substances, deux facteurs nommés BINWOE sont donc nécessaires par couples de substances (ATSDR, 2004).

Le « poids de la preuve » d'interactions au sein du mélange est ainsi transcrit de manière quantitative en un score. Celui-ci est calculé par multiplication des facteurs choisis dans le tableau 3 suivant.

Tableau 3 : méthode BINWOE : critères de l'évaluation des interactions au sein du mélange (adapté à partir de ATSDR, 2004 et Mumtaz *et al.*, 1992 et 1994)

Interaction	Facteur
= additive	0
> plus qu'additive	+1
< moins qu'additive	-1
? indéterminée	0
Qualité des données	
Compréhension du mécanisme	
I. Données sur le mélange : Caractérisation et interprétation non ambiguë	1
II. Données sur les substances : Pas de caractérisation fiable mais mécanisme commun et type d'interaction identifiés	0,71
III. Données sur le mélange : Caractérisation et interprétation ambiguë Mécanisme commun et type d'interaction non identifiés avec assurance	0,32
Signification toxicologique	
A. Démonstration directe	1
B. Démonstration indirecte (substances semblables)	0,71
C. Démonstration peu explicite	0,32
Éléments modificateurs	
Pertinence de la durée d'exposition et séquence	
1. oui	1
2. non	0,79
a. Données <i>in vivo</i>	1
b. Données <i>in vitro</i>	0,79
Pertinence de la voie d'exposition et séquence	
i. oui	1
ii. non	0,79

L'indice BINWOE correspond à la multiplication des facteurs du tableau 3.

L'indice WOE correspond à une somme de facteurs d'interactions traduisant les effets d'une substance sur une autre et réciproquement. Par exemple, pour deux substances i et j, l'indice WOE correspond à une double somme sur i et j :

$$WOE = \sum_{i+j} \sum_{i+j} IF_{i,j} = \sum_{i+j} \sum_{i+j} \frac{HQ_i}{HI_{ADD}} \cdot BINWOE_{i,j} \cdot (HQ_i \cdot HQ_j)^{0,5} \quad (4)$$

Avec :

IF_{i,j} : facteur d'interactions de la substance i avec la substance j.

HQ_i : quotient de danger de la substance i

HI_{ADD} : HI basé sur l'hypothèse d'additivité des doses

BINWOE_{i,j} : binary weight-of-evidence du couple de substances (i,j)

L'interprétation de l'indice WOE est ambiguë : par exemple, un score négatif (-0,15) peut correspondre à la somme de facteurs d'interactions antagoniste (-0,21) et synergique (+0,6) ou à celle de plusieurs facteurs d'interactions reflétant un antagonisme mais avec une faible confiance dans le résultat (-0,01 ; -0,04 ; -0,05, -0,01, -0,04).

Mumtaz et Durkin (1992) recommandent de normaliser l'indice WOE par sa valeur maximale WOE_{MAX} , c'est à dire celle correspondant à un BINWOE de 1.

$$WOE_{MAX} = \sum_{i+j} \sum \frac{HQ_i}{HI_{ADD}} \cdot (HQ_i \cdot HQ_j)^{0.5} \quad (5)$$

$$WOE_N = \frac{WOE}{WOE_{MAX}} \quad (6)$$

Afin de tenir compte des interactions, l'indice de danger basé sur une hypothèse d'additivité du mélange est ainsi modifié :

$$HI_{INT} = HI_{ADD} \times UF_I^{WOE_N} \quad (7)$$

Avec :

HI_{ADD} : HI basé sur l'hypothèse d'additivité des doses

UF_I : facteur d'incertitudes pour les interactions

WOE_N : indice weight-of-evidence normalisé du mélange de substances

Le choix de la valeur du facteur d'incertitudes UF_I dépend des qualités des études, des informations disponibles sur les interactions et des concentrations des substances. L'utilisation d'un facteur situé entre 1 et 100 est discutée par le National Research Council (NRC). Lors de l'application de la méthode, Mumtaz et Durkin ont proposé une valeur arbitraire de 10 (1992). Les valeurs du WOE étant de -1 à +1, le facteur UF_I^{WOE} peut prendre des valeurs de 0,1 à 10.

Exemples d'utilisation

L'intérêt de la méthode a été confirmé par une étude basée sur le principe suivant : la méthode est mise en application par différentes équipes indépendantes de chercheurs sur plusieurs couples identiques de substances. La confrontation des résultats a permis de mettre en évidence une cohérence des conclusions (Mumtaz, 1996). Les mélanges testés sont constitués respectivement de PCBs-tétrachlorure de carbone et de zinc-cadmium pour lesquels des données d'interactions sont disponibles. Pour le mélange Zn-Cd, l'attention des évaluateurs s'est portée sur le cas d'une exposition chronique par ingestion d'eau de boisson. Il est intéressant de constater que les conclusions avaient une cohérence plus faible concernant ce mélange : deux équipes concluent à des interactions moins qu'additives, une autre à une interaction plus qu'additive et les deux dernières à une additivité.

Cette méthode a été utilisée par ATSDR (2004) pour la réalisation des profils d'interactions pour des mélanges composés de quatre substances retrouvés conjointement au niveau de sites pollués. La liste des mélanges pour lesquels cette méthode a été testée est donnée en annexe 1.

Intérêts et limites

Cette approche proposée par Mumtaz et Durkin (1992) a nettement contribué à améliorer la démarche d'évaluation des risques liés au mélange (US-EPA, 2000).

L'équation (7) est d'une utilisation simple par séparation des composantes d'additions et d'interactions : les interactions sont uniquement représentées par le facteur $UF_I^{WOE_N}$.

Une des principales limites soulevées par cette procédure est le manque de données relatives aux interactions sur lesquelles s'appuyer pour évaluer avec fiabilité les interactions (US-EPA, 2000).

Les points faibles identifiés de la méthode sont les suivants :

- afin d'établir un lien entre substances et interactions, l'évaluateur doit analyser une grande diversité de travaux sans méthode systématique d'analyses : profils toxicologiques individuels, structures des substances, études sur les mécanismes d'action, pharmacocinétiques et études d'interactions.
- aucune méthodologie systématique n'est donnée pour la détermination des facteurs d'incertitudes UF_i , qui est fondée sur la conviction de l'évaluateur
- les poids utilisés pour pondérer les différents éléments de calcul ne reposent pas sur des considérations expérimentales

Des **interrogations** ont été soulevées par ATSDR (2004) concernant la méthodologie et son interprétation.

Concernant la **méthodologie**, on peut s'interroger sur la pertinence de séparer dans la méthode la compréhension des mécanismes et la signification toxicologique car ces deux aspects semblent difficilement séparables. La notion de « signification toxicologique » traduit la pertinence de réaliser une extrapolation de l'animal à l'homme en fonction des mécanismes observés.

L'ampleur des interactions est insuffisamment caractérisée par un simple facteur d'incertitude ajouté dans la formule du WOE.

Concernant l'**interprétation**, les points sensibles de l'évaluation sont les suivants :

- l'extrapolation des fortes aux faibles doses : des interactions peuvent avoir lieu à fortes doses dans le cadre des expérimentations et conduire à une interprétation peu adaptée au cas d'expositions à faibles doses.

Une étude publiée par Feron *et al.* (1995) s'est intéressée à des interactions à des doses proches de la dose sans effet observé. Cependant, aucune relation entre dose et interactions n'a pu être établie à faibles doses.

- la méthode ne prend pas en compte les changements de proportions des doses des substances dans le mélange.

Il est suggéré de privilégier les résultats qualitatifs de la méthode WOE en attendant une amélioration de la procédure de calcul pour des mélanges à composition variable (Mumtaz et Durkin, 1992).

Cette méthode doit donc faire l'objet de tests de validation supplémentaires afin d'améliorer l'interprétation des études expérimentales et bien transcrire les résultats toxicologiques en tant qu'outils d'évaluation des risques.

d.2. Méthode modifiée du weight-of-evidence method (« WOE method ») :

Une méthode modifiée a été proposée par Eastern Research Group et Durkin (1995) puis développée par l'US-EPA et proposée dans le guide de référence (2000).

D'un point de vue pratique, la méthode Interactions-HI modifiée nécessite également de calculer deux termes pour chaque couple de substances : un BINWOE pour l'influence de A sur B et réciproquement. Les modifications explicitées en annexe 2 portent sur les critères de classification et la méthode de calcul. Cette méthode s'appuie davantage sur des données quantitatives d'interactions. Chaque terme représentant une substance est modifié en fonction des interactions identifiées avec les autres substances du mélange.

d.3. Comparaison des méthodes originales et modifiées

L'ATSDR a réalisé une analyse comparative des méthodes originale et modifiée (2004).

Les **points communs** avec la méthode d'origine sont : même poids de classification de 0 à 1 et détermination de deux BINWOE par couple de substances.

Par contre, les **différences** portent sur les points suivants :

- un poids moins fort est donné aux interactions moins qu'additives dans le cas où des incertitudes sont présentes (catégories II et III).

- il apparaît assez nettement que la méthode modifiée est moins directive et fait davantage appel au jugement scientifique critique de l'évaluateur.

La méthode modifiée a une plus grande part de flexibilité. Ce constat constitue à la fois un intérêt et une limite puisque ce cadrage plus réduit autorise l'intégration d'un nombre d'aspects plus important mais introduit également un biais lié à la libre interprétation de l'évaluateur.

- la méthode d'origine s'intéresse à un facteur unique d'incertitudes pour l'ensemble du mélange tandis que la méthode modifiée est davantage orientée vers des facteurs caractérisant les effets de chaque substance sur les autres. Un des avantages de la méthode modifiée est donc de permettre une application directe de ce facteur au quotient de danger HQ qui est spécifique d'une substance.

Les méthodes d'interactions ne sont pas validées par des instances. Leur mise en pratique sur différents mélanges permettra de mieux cerner les incertitudes et d'améliorer ainsi l'utilisation.

e. Utilisation des modèles mécanistiques

Les modèles pharmacocinétique et pharmacodynamique (PBPK, PBPK/PD) sont utilisés actuellement pour des couples de substances (ATSDR, 2004 ; Groten, 2004).

Leur fonctionnement permet de prédire d'une part, l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination du composé et d'autre part, les effets de substances dans différents compartiments de l'organisme.

Ces méthodes sont utilisées pour extrapoler les résultats d'études expérimentales réalisées à des doses élevées vers des niveaux plus faibles d'exposition pour une voie d'exposition identique. Leur mise en application pour des expositions chroniques à plusieurs substances n'est actuellement pas adaptée (Thomas *et al.*, 1996).

Bien que ces modèles fournissent des éléments de réponse concernant le test d'hypothèses d'interactions ou la prévision d'interactions à faibles niveaux d'exposition, les écarts constatés entre valeurs calculées et résultats expérimentaux restent importants.

Les modèles actuels ne permettent pas de déterminer l'effet d'une autre substance sur un mélange binaire (Krishnan *et al.*, 2002).

*Ces éléments montrent que les modèles actuels ne permettent pas une utilisation fiable de ces outils dans le cas des mélanges de substances (ATSDR, 2004 ; Krishnan *et al.*, 2002) : une des principales limites est la prise en compte de plusieurs mécanismes biologiques pertinents.*

Une perspective de travail intéressante est de combiner les informations provenant des modèles expérimentaux et mécanistiques (Groten, 2004).

f. Synthèse

Pour mener une évaluation des risques sur un mélange, l'ATSDR et l'US-EPA proposent de structurer le travail. Afin d'avoir une vue d'ensemble de la démarche à suivre, des schémas de synthèse et une description détaillée des étapes ont été réalisés et sont proposés en annexes 3 (US-EPA, 2000) et 4 (ATSDR, 2004).

Les principaux éléments des méthodologies sont synthétisés dans des fiches en annexe 5 en vue de faciliter une utilisation pratique.

2.2.4. Mise en pratique

Les démarches organisées en différentes étapes selon l'ATSDR et l'US-EPA permettent de choisir et mettre en pratique les méthodes décrites précédemment dans le rapport.

Cette partie se propose de présenter un exemple d'application afin de montrer les éléments de réflexion préalables au choix d'une méthodologie d'évaluation. En complément, une grille d'évaluation est proposée en annexe 6 afin d'apprécier à terme la qualité du travail réalisé en fonction des données disponibles.

2.2.4.1. Objectif de l'exemple

L'exemple choisi permet d'analyser les étapes permettant d'évaluer les données toxicologiques et les actions conjointes au sein du mélange afin de sélectionner puis utiliser une méthode d'évaluation.

L'exemple proposé s'intéresse aux effets par voie orale liés au couple arsenic/cadmium sous formes inorganiques. Il est à noter que le choix d'étude du couple arsenic/cadmium par l'ATSDR repose sur le fait que ces substances sont fréquemment présentes conjointement au niveau de sites pollués (ATSDR, 2004 ; Mumtaz, 2004).

Les éléments ayant conduit à présenter ce couple dans le cadre du travail sont les suivants :

- mélange de deux substances de familles distinctes
- paramètres faisant l'objet d'une limite de qualité dans les eaux destinées à la consommation humaine (arrêté du 11 janvier 2007)
- présence conjointe à l'échelle nationale : le couple est détecté dans 131 unités desservant 1,5 millions d'habitants (Données du Ministère de la Santé, France, 2003-2006)

Cette mise en pratique a pour objectif premier de mettre en évidence les étapes préliminaires nécessaires au choix d'une méthode :

- Compréhension des effets préoccupants communs par un examen des profils toxicologiques individuels et des actions conjointes (Partie A)
- Validation du type identifié d'actions conjointes par une évaluation de la pertinence des données (Partie B)
- Choix de la méthode (Partie C)

2.2.4.2. Effets toxiques à seuil

La démarche sera présentée à partir d'un effet toxique à seuil commun aux deux substances.

Les données des profils toxicologiques individuels des substances sont à utiliser en vue de dresser un portrait des actions conjointes.

A. Examen des profils toxicologiques individuels et des actions conjointes

Les grandes étapes présentées ci-après sont recommandées (ATSDR, 2004) :

- (a) Toxicité individuelle des substances du couple
- (b) Revue de la littérature sur les effets conjoints
 - Etudes chez l'homme, chez l'animal *in vivo* et *in vitro*
 - Résumé des données : influence de la substance 1 sur la substance 2
 - Résumé des données : influence de la substance 2 sur la substance 1
- (c) Revue de la littérature sur les mécanismes d'interactions
- (d) Pertinences des données d'actions conjointes

La mise en pratique nécessite des adaptations et des ajustements car il n'existe pas de méthode-type validée pour les mélanges de substances.

La présentation suivante a pour objet de mettre en avant les étapes et les choix réalisés par l'ATSDR pour mener l'évaluation sur le couple As/Cd.

(a) Toxicité individuelle des substances du couple

Les données sur le mélange As/Cd étant limitées dans la littérature scientifique, une première étape consiste à synthétiser les informations sur la toxicité individuelle des substances.

A la fin de cette étape, un tableau récapitulatif des effets sanitaires individuels par voie orale et des doses dérivées à partir de la littérature est réalisé (tableau 4).

Tableau 4 : récapitulatif des effets individuels de l'arsenic et du cadmium (ATSDR, 2004)

Arsenic		Cadmium	
Effet	Dose de référence (mg/kg/j)	Effet	Dose de référence (mg/kg/j)
<i>Lésions de la peau</i>	3.10^{-4} (MRL)	Lésions de la peau	Non appliquée Données insuffisantes
Cardiovasculaire	3.10^{-4} (TTD)	Cardiovasculaire	5.10^{-3} (TTD)
Hématologique	6.10^{-4} (TTD)	Hématologique	8.10^{-4} (TTD)
Rénal	9.10^{-2} (TTD)	<i>Rénal</i>	2.10^{-4} (MRL)
Neurologique	3.10^{-4} (TTD)	Neurologique	2.10^{-4} (TTD)
Testiculaire	Non appliqué Données insuffisantes	Testiculaire	3.10^{-3} (TTD)
Effet	Excès de risque unitaire (mg/kg/j) ⁻¹	Effet	Excès de risque unitaire (mg/kg/j) ⁻¹
Cancer	1,5 (ERU ₀)	-	-

En italique : effet critique

MRL : Minimal Risk Levels : quantité de substances à laquelle un individu peut être exposé pendant une durée indéterminée sans effet sanitaire (ATSDR, 2004)

TTD : Target Toxicity Dose : dose dérivée de la dose sans effet observé à partir d'études sur l'effet considéré (ATSDR, 2004)

Lorsque les données ne sont pas adaptées pour dériver une TTD alors l'utilisation de la dose associée à l'effet critique (MRL) est alors recommandée.

Ces données seront très utiles pour mener ensuite une démarche quantifiée pour les effets communs.

(b) Revue de la littérature sur les effets communs

La revue de littérature sur les effets communs permet ainsi de répondre à l'interrogation : « Quelles sont les conséquences de la présence conjointe des deux substances sur leurs toxicités respectives pour un organe cible commun ? ». Cette approche permet de mettre en évidence l'effet toxique conjoint de substances sur des organes cibles donnés.

Cependant, il est probable que ces substances interagissent alors même que l'une des deux substances n'a pas d'effet toxique sur l'organe considéré mais a une influence sur la présence de l'autre substance.

Cette influence peut s'exprimer par des interactions de type potentialisation et inhibition mais aussi par des mécanismes de modulation où une substance agit sur la concentration d'une autre substance dans l'organisme indépendamment d'un organe cible donné. Une question supplémentaire à se poser est donc : « Quelles sont les conséquences de la présence conjointe des deux substances sur leurs concentrations dans l'organisme ? »

La grande majorité des données de la littérature sur les mélanges concerne des couples de substances (ATSDR, 2004).

L'analyse des données toxicologiques est à réaliser en présentant les points suivants :

- durée de l'étude
- voie et gammes de doses administrées
- types de tests
- espèces
- effets et doses associées

Pour le couple arsenic/cadmium, les données pertinentes sont des études *in vivo* par voie orale des effets conjoints hématologique, hépatique et rénal. Des études par injection intrapéritonéale sont également prises en compte étant donné le nombre limité d'études disponibles pour le couple.

L'ensemble des informations est représenté dans les tableaux 5 et 6 afin de synthétiser les effets du cadmium sur la toxicité et la concentration dans les tissus de l'arsenic et réciproquement :

Tableau 5 : données relatives à l'influence de l'arsenic sur la toxicité du cadmium : exemple de l'effet rénal (ATSDR, 2004)

Durée	Effet	Doses utilisées As + Cd			Conclusions	Références
		Moins qu'additif	Additif/sans effet	Plus qu'additif		
Voie orale (mg/kg/j)						
aiguë	rénal		0,67-8,5+0,86		additivité	Elsenhans <i>et al.</i> , 1987
intermédiaire	rénal		0,68-2,6+0,95		additivité	Schmolke <i>et al.</i> , 1992
Injection intrapéritonéale (mg/kg/j)						
intermédiaire	rénal		5,8+1,6		additivité	Yanez <i>et al.</i> , 1991
aiguë	rénal		5,8+1,6		indéterminé mais effets observés plus sévères du mélange	Diaz-Barriga <i>et al.</i> , 1990

Tableau 6 : données relatives à l'influence du cadmium sur la toxicité de l'arsenic : exemple de l'effet rénal (ATSDR, 2004)

Durée	Effet	Doses utilisées Cd + As			Conclusions	Références
		Moins qu'additif	Additif/sans effet	Plus qu'additif		
Voie orale (mg/kg/j)						
aiguë	rénal		0,86-17+0,67		additivité	Elsenhans <i>et al.</i> , 1987
intermédiaire	rénal		2,5+2,5		additivité	Mahaffey <i>et al.</i> , 1981
Injection intrapéritonéale (mg/kg/j)						
aiguë	rénal		1,6+5,8		additivité	Yanez <i>et al.</i> , 1991

Cette étape permet d'avoir un aperçu des influences réciproques entre les substances. Une étape supplémentaire consiste à choisir les mécanismes d'interactions les plus pertinents d'un point de vue sanitaire et à les expliciter.

(c) Revue de la littérature sur les mécanismes d'interactions

Les mécanismes d'interactions entre arsenic et cadmium sont associés à la présence de métallothionéine (MT), protéine induite par des substances et exerçant un effet protecteur face aux dommages de l'oxydation cellulaire.

L'arsenic favorise l'induction dans l'organisme de métallothionéine capable de retenir le cadmium. Ce phénomène exerce un effet protecteur sur les cellules face à la toxicité du cadmium. Ce phénomène n'a été investigué que pour l'effet hépatique. Cependant, le complexe formé par la protéine et le cadmium exerce une toxicité sur les reins : l'absorption au niveau de la membrane rénale est suivie d'une dégradation de la protéine conduisant à un relargage de cadmium dans le milieu cellulaire.

L'interprétation de ces résultats pour des expositions à plus long terme n'est pas évidente. La toxicité du cadmium dépend donc de l'équilibre entre l'effet protecteur de la protéine MT capable de favoriser une rétention du cadmium et l'action toxique du complexe MT-Cd par relargage et accumulation de cadmium au niveau des reins.

Le cadmium a également la capacité d'induire de la métallothionéine. Celle-ci a très peu d'affinité avec l'arsenic et est peu susceptible de favoriser sa rétention. Par contre, cette protéine a un effet antioxydant protecteur contre l'action de l'arsenic (Liu et Klaassen, 1996 ; Habeebu *et al.*, 2000 ; ATSDR, 1999).

Des travaux de recherche supplémentaires pour expliquer le rôle de l'arsenic et du cadmium dans la modulation des mécanismes associés à la métallothionéine sont nécessaires pour mieux comprendre les conséquences d'une exposition conjointe à l'arsenic et au cadmium.

(d) Pertinences des données d'actions conjointes

La pertinence des données est principalement déterminée à partir des critères suivants :

- occurrence des résultats dans la littérature
- diversité des études et fiabilité des protocoles
- type d'étude : homme, animal *in vivo* (*in vitro* à citer si peu de données existantes)
- voie d'exposition : orale
- durée d'exposition
- clarté de la démarche et des explications
- résultats cohérents pour un effet commun identifié

Lorsque ces critères ne sont pas validés, il est recommandé de s'appuyer sur un outil d'évaluation pour déterminer le poids des informations et des résultats.

B. Evaluation de la pertinence des données

A ce stade de l'évaluation, les études toxicologiques sur les effets conjoints ont permis de se faire une idée sur le type de relations entre les substances du mélange et les effets communs : moins qu'additif, additif ou plus qu'additif.

Cependant, il s'agit à présent de caractériser plus précisément le type d'actions conjointes en mesurant le poids des preuves avancées, en particulier lorsque les résultats des études ne sont pas cohérents entre eux.

- L'utilisation d'un indice « BINWOE » visant à mesurer le « poids des preuves » avancées par l'ensemble des études est pertinente pour trancher et proposer un résultat global représentatif de l'ensemble des études. Il s'agit d'une méthode réalisée par couples de substances dans le mélange.

Cette étape supplémentaire est menée en trois points (Cf. point 2.2.3. présentation de la méthode WOE) :

- type d'interaction
- compréhension du mécanisme
- signification toxicologique

L'indice est spécifique d'un effet ou d'un organe. L'application de la méthode s'appuie donc sur la sélection des effets et organes cibles communs aux substances réalisées dans la partie A. La démarche se déroule ensuite selon l'organisation suivante.

➤ **Synthèse des effets et des valeurs d'indices BINWOE associés pour le couple**

Des organes cibles communs ont été identifiés entre l'arsenic et le cadmium et ont conduit à appliquer la démarche pour les effets recensés dans le tableau 7.

Tableau 7 : synthèse des effets et BINWOE du couple As/Cd

Couple As/Cd	Influence As sur Cd	Influence Cd sur As
Effet	BINWOE	
Rénal	? (0)	= IIB (0)
Cutané	-	? (0)
Hématologique	< IIIB	< IIIB
Testiculaire	< IIIB2ii	-

Note : Le principe de calcul de la méthode BINWOE est expliqué dans le tableau 3.

La méthode n'a pas pu être appliquée pour évaluer l'influence de l'arsenic sur le cadmium concernant l'effet cutané et celle du cadmium sur l'arsenic concernant l'effet testiculaire puisque ces tissus et organes ne sont pas identifiés comme cibles.

Par ailleurs, la détermination de l'indice pour évaluer l'influence du cadmium sur l'arsenic est délicate étant donné le manque de données d'interactions sur l'effet critique par lésions cutanées et sur l'effet cancérigène de l'arsenic.

➤ **Interprétation**

L'interprétation est d'ordre qualitatif. Le choix des coefficients est explicité uniquement pour l'effet rénal.

L'interprétation est menée en trois points :

- Type d'interaction

Influence de l'arsenic sur le cadmium

Il n'est pas possible de déterminer le type d'interaction concernant l'influence de l'arsenic sur le cadmium d'où une pondération par 0 : les données toxicologiques sont inadaptées et les données sur les mécanismes bien que nombreuses sont ambiguës.

Influence du cadmium sur l'arsenic

Une additivité du mélange est mise en évidence d'où la pondération par 0. Ceci est démontré par l'absence d'effet du cadmium sur la toxicité de l'arsenic lors d'une étude à court terme sur des rats (Mahaffey et Capar, 1981).

- Compréhension du mécanisme

Influence de l'arsenic sur le cadmium

L'accumulation de cadmium dans les reins est associée à un effet critique (IRIS, 2001). Des études réalisées par voie orale sur des rats n'ont pas mis en évidence une modification des concentrations en cadmium en présence d'arsenic (Schmolke *et al.*, 1992) et suggèrent une additivité des effets mais l'absence d'interactions.

En l'état actuel des connaissances, une protéine MT induite par l'arsenic assure une protection à court terme par complexation et rétention de cadmium mais favorise une toxicité chronique par relargage et accumulation de cadmium au niveau des reins (ATSDR, 1999 ; Habeebu *et al.*, 2000 ; Liu et Klaassen, 1996).

En conséquence, la compréhension du mécanisme est estimée ambiguë d'où une classification indéterminée et le point d'interrogation.

Influence du cadmium sur l'arsenic

Une exposition conjointe à court terme sur des rats ne met pas en évidence une influence du cadmium sur l'arsenic (Schmolke *et al.*, 1992 ; Mahaffey et Capar, 1981). Les effets semblent additifs et sans interaction.

Par ailleurs, la production de protéine MT peut conduire à protéger les cellules contre le stress oxydant produit par l'arsenic.

En conséquence, le type d'interaction suggéré est additif ou moins qu'additif avec une caractérisation peu fiable d'où une classification de type II associée à un poids de 0,71.

- Signification toxicologique

Influence de l'arsenic sur le cadmium

L'effet rénal est l'effet critique du cadmium. L'arsenic exerce également un effet toxique sur le rein mais moindre (ATSDR, 2000). Une étude de 10 semaines par voie orale menée sur des rats n'a pas mis en évidence d'effet de l'arsenic sur le cadmium et a montré quelques modifications structurales des mitochondries des cellules de reins après exposition à de l'arsenic (Mahaffey *et al.*, 1981).

Une étude conjointe par injection intrapéritonéale a mis en évidence un effet plus sévère du mélange par rapport à l'effet individuel des substances à une même dose (Diaz-Barriga *et al.*, 1990). Cependant, le protocole et les explications n'ont pas été jugés adaptés pour conclure (ATSDR, 2004).

En conséquence, les données toxicologiques ne permettent pas d'estimer si l'arsenic influence la toxicité du cadmium.

Influence du cadmium sur l'arsenic

Une étude conjointe de 10 semaines par voie orale menée sur des rats a mis en évidence un effet identique du mélange par rapport à l'effet individuel de l'arsenic à une même dose. Le cadmium est donc sans influence sur l'effet toxique rénal de l'arsenic (Mahaffey et Capar, 1981). Les données toxicologiques semblent tendre vers une hypothèse d'additivité. *Cependant, le degré de confiance dans le résultat n'est pas élevé d'où une classification de type B associé à un poids de 0,71.*

➤ **Calcul des indices BINWOE**

Influence de l'arsenic sur le cadmium

$BINWOE_1 = 0(\text{type indéterminé d'interaction}) \times 0,32(\text{III : mécanisme d'interaction ambigu}) \times 0,32(\text{C : signification toxicologique des résultats non démontrée}) \times 0,79(2 : \text{durée d'exposition}) \times 1(\text{in vivo et in vitro}) \times 1(\text{voie d'exposition})$

Influence du cadmium sur l'arsenic

$BINWOE_2 = 0(\text{additivité}) \times 0,71(\text{II : compréhension partielle du mécanisme d'interactions}) \times 0,71(\text{B : signification toxicologique des résultats partiellement démontrée}) \times 0,79(2 : \text{durée d'exposition}) \times 1(\text{in vivo et in vitro}) \times 1(\text{voie d'exposition})$

➤ **Interprétation des indices BINWOE**

Une somme des scores des BINWOE positive suggère un risque potentiel supérieur à celui prédit par une simple hypothèse d'additivité.

Une somme des scores des BINWOE négative suggère un risque potentiel inférieur à celui prédit par une simple hypothèse d'additivité.

Pour le couple arsenic/cadmium, le score des BINWOE est égal à 0. L'action conjointe exercée par l'arsenic et le cadmium semble additive. Etant donné les indéterminations, l'interprétation des indices est à mener avec précaution.

Les durées d'exposition des expériences sont probablement insuffisantes pour mettre en évidence des effets conjoints de l'arsenic et du cadmium.

La méthode du BINWOE n'étant pas validée, il est indispensable de garder en complément un regard critique sur les valeurs des quotients de danger des substances et de l'indice de danger du mélange surtout s'il diffère nettement de 1.

C. Choix de la méthode

En pratique, le choix de la méthode est issu du type d'actions conjointes identifiées en étapes A et B et est résumé dans le tableau 8.

Tableau 8 : choix des méthodes à partir des actions conjointes des substances d'un mélange (Cas de mélanges simples de substances de familles distinctes)

Type d'interaction	Effets	Action conjointe	Méthode
Sans interaction	additivité des doses	action semblable simple	-Hazard Index (HI) par effet Avec utilisation des VTR si effet critique ou TTD sinon
	additivité des réponses	action dissemblable simple	Additivité des réponses
Avec interaction	synergisme antagonisme	action semblable complexe	Interactions-HI avec weight-of-evidence (WOE)
	potentialisation inhibition	action dissemblable complexe	

Dans le cas du couple arsenic/cadmium, l'ATSDR recommande au préalable d'utiliser la méthode de l'indice de danger « Hazard Index HI » et d'appliquer la méthode qualitative WOE pour évaluer la pertinence des données. Le choix d'une méthode quantitative d'évaluation des risques plus élaborée n'est pas justifié étant donné le manque de données *in vivo* sur le couple (ATSDR, 2004).

2.2.4.3. Effets toxiques sans seuil

La logique de la démarche concernant la recherche et l'analyse des informations est proche de celle proposée pour les substances à seuil (Partie A et B).

Par contre, les méthodes employées (Partie C) ne sont pas les mêmes : l'hypothèse d'additivité des réponses est recommandée pour les substances cancérigènes génotoxiques (ATSDR, 2004).

Dans le cas du couple arsenic/cadmium, l'évaluation d'un effet cancérigène conjoint ne peut être menée puisque qu'aucune étude adaptée par voie orale ne met en évidence un caractère cancérigène du cadmium. Par ailleurs, aucune donnée ne montre une influence du cadmium sur l'effet cancérigène de l'arsenic.

En l'état actuel des connaissances, il n'existe pas de méthode pertinente pour évaluer les risques liés à des mélanges de substances sans seuil. L'approche par addition des réponses est fortement remise en cause. Dès lors qu'une substance est présente dans l'organisme, la survenue d'un risque est probable quelle que soit la dose. Réaliser une somme des risques individuels n'est alors pas suffisamment adapté pour évaluer significativement un risque lié au mélange.

Par ailleurs, il n'existe pas de méthode d'évaluation quantitative permettant de prendre en compte les interactions de type synergie, potentialisation, antagonisme ou inhibition entre ces substances. Une approche qualitative est alors à mener en discutant des effets probables de ces interactions (US-EPA, 2000).

2.3. Incertitudes

Actuellement, il n'existe pas d'approche générale validée au niveau européen ou international. En l'état actuel des connaissances, des interrogations se posent quant à la fiabilité et à l'interprétation des résultats des méthodes actuelles.

Les principales incertitudes identifiées s'organisent autour des points suivants :

- les méthodologies présentées ne sont pas éprouvées avec une variété suffisamment importante de mélanges. Chaque méthode présente un résultat unique alors qu'il serait pertinent d'avoir une gamme de résultats avec un intervalle de confiance associé (McCarty et Borgert, 2006).

Dans ce domaine, il n'existe pas de méthode systématique d'évaluation des incertitudes.

En l'état actuel des connaissances, une méthode fortement recommandée pour réduire les incertitudes consiste à mener plusieurs méthodologies d'évaluation de risques pour un même mélange et à confronter ensuite les résultats.

- réaliser une réelle caractérisation du danger est limité par le fait que les données toxicologiques sont insuffisantes. En conséquence, les types d'actions au sein du mélange sont insuffisamment caractérisés. Lorsque des données sont disponibles, l'extrapolation des résultats de l'animal à l'homme demande également de s'interroger étant donné les écarts entre les doses testées au laboratoire et les niveaux d'exposition sur le terrain (Groten, 2004 ; Dybing *et al.*, 2002).

Compte tenu des limites actuelles des connaissances sur les mélanges, il est indispensable de bien identifier en premier lieu les effets individuels préoccupants en vue de repérer les éléments communs, et de travailler en second lieu sur les effets conjoints.

- les méthodes proposées par les instances sont recommandées pour des mélanges spécifiques d'un site. Concernant les eaux de consommation, l'évaluation ne peut être effectuée au niveau d'un site spécifique car l'objectif de l'AFSSA est de proposer un outil de gestion à l'échelon national.

Les éléments présentés mettent en évidence le besoin de recherches supplémentaires dans le domaine des mélanges afin de réaliser de solides évaluations du risque et valider progressivement les méthodologies.

L'intérêt de poursuivre les investigations est d'autant plus justifié par la mise en évidence de mélanges préoccupants à l'échelon national.

3. Données d'exposition conjointe en France

3.1. Objectifs

L'objectif de cette troisième partie est double :

A partir des données extraites de la base Sise-Eaux 2003-2006 : (i) identifier les couples de substances réglementées par le code de la santé publique⁴ pour lesquels des dépassements conjoints sont mesurés (ii) repérer les unités de distribution et évaluer la population concernée par une exposition conjointe à As/Sb à l'échelon national

Note : l'intérêt spécifique pour le couple As/Sb est justifié par l'attention portée par l'OMS⁵ et les interrogations actuelles du groupe de travail de l'Afssa sur l'interaction potentielle de ces deux substances.

3.2. Méthode

L'exposition de la population est approchée à partir des données Sise-Eaux de la Direction Générale de la Santé issues des analyses⁶ du contrôle sanitaire (2003-2006).

Dans la présente étude, la population susceptible d'être exposée regroupe l'ensemble des individus alimentés par une unité de distribution (UDI).

Cette partie se limite à une exposition par voie orale par consommation d'eau du robinet. Les autres sources d'expositions telles les aliments qui peuvent représenter une source d'apport non négligeable pour certaines substances ne sont pas prises en compte.

1^{ère} partie : liste des couples de substances détectées sur la période 2003-2006

Plus de 50 paramètres font l'objet d'une limite ou d'une référence de qualité dans les eaux destinées à la consommation humaine. L'étude conduite s'est focalisée dans un premier temps sur 8 substances présentées dans le tableau 9 et sélectionnées à partir des critères suivants :

- substances faisant l'objet d'une limite de qualité ;
- disponibilité de l'information ;
- substances pouvant être présentes naturellement dans l'eau en France.

Tableau 9 : paramètres étudiés et limites de qualité

Paramètres	Limites de qualité	Unités
arsenic	10	µg/L
antimoine	5	µg/L
baryum	0,70	mg/L
bore	1	mg/L
cadmium	5	µg/L
chrome	50	µg/L
fluorures	1,50	mg/L
sélénium	10	µg/L

⁴ Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine

⁵ Fiche antimoine (OMS, 1998)

⁶ Analyses sur des prélèvements effectués en production ou distribution

Afin d'identifier les couples d'intérêt, la démarche consiste à croiser les informations disponibles pour chaque couple de substances et à identifier les UDI et la population associée, concernées par :

- une détection conjointe
- la détection d'une substance et le dépassement de la limite de qualité de l'autre substance pour au moins une analyse pendant la période 2003-2006
- le dépassement conjoint de la limite de qualité pour les deux substances pour au moins une analyse pendant la période 2003-2006

Le dépassement de la limite de qualité pour au moins une analyse ne signifie pas que la concentration moyenne sur la période dépasse la limite de qualité.

2^{ème} partie : mise en évidence des UDI et populations concernées par une exposition conjointe As/Sb à l'échelon national sur la période 2003-2006

Dans le cadre de ces deux parties, l'interprétation des données de qualité de l'eau est à réaliser en restant vigilant au sens des concentrations mesurées sur le terrain.

Pour chaque UDI, les analyses réalisées à la sortie des installations de production et en distribution ont été prises en compte. Il est possible que pour certaines UDI, les résultats d'analyses ne soient pas exactement représentatifs de la qualité de l'eau réellement consommée dans l'ensemble de l'UDI compte tenu de la complexité des modes de distribution (mélange d'eau, interconnexion,...).

A titre d'exemple, cette situation peut se rencontrer dans le cas d'une UDI dont l'eau distribuée provient d'un mélange, en réseau, d'eaux produites par deux installations différentes : l'une produisant une eau conforme et l'autre délivrant une eau non conforme, le mélange d'eau étant conforme aux exigences de qualité. De ce fait, l'UDI sera qualifiée de non conforme, alors que seule une partie de ses habitants recevra de l'eau non mélangée ou avec un taux de dilution insuffisant, ce qui tend donc à surestimer le nombre d'habitants desservis par une eau non conforme.

Il convient également de rappeler qu'une surestimation de l'exposition est possible puisque des dépassements peuvent être ponctuels et concerner un faible pourcentage du nombre total d'analyses.

3.3. Résultats

1^{ère} partie : liste des couples de substances détectées sur la période 2003-2006

Les résultats sont présentés en deux sous-parties : (i) nombre d'UDI et population associée et (ii) classement des couples.

3.3.1. Nombre d'unités de distribution et population associée

D'après les données Sise-Eaux, le nombre total d'UDI en France est de 30 029 et correspond à 60 008 683 habitants desservis.

Parmi ces UDI, le nombre d'unités pour lesquelles les paramètres étudiés sont analysés, détectés et en dépassement est répertorié dans le tableau 10 suivant.

Tableau 10 : nombre et pourcentage d'UDI pour lesquelles il y a analyses, détection et dépassement des paramètres (Sise-Eaux, DGS-DRASS-DDASS, 2003-2006)

	Arsenic	Antimoine	Baryum	Bore	Cadmium	Chrome	Fluorures	Selenium
UDI Analyse	17456	18021	15902	11439	17715	16879	17214	17082
% / nombre total d'UDI	58,13	60,01	52,96	38,09	58,99	56,21	57,32	56,89
UDI Détection	2200	360	11850	4069	451	876	10433	1210
% / nombre total d'UDI	7,33	1,20	39,46	13,55	1,50	2,92	34,74	4,03
UDI Dépassement	488	94	73	7	6	10	72	99
% / nombre total d'UDI	1,63	0,31	0,24	0,02	0,02	0,03	0,24	0,33

Pour la majorité des substances étudiées, des informations sont disponibles pour près de 60% des UDI en France, hormis pour le bore (38 %). En comparaison avec les précédentes données rendues disponibles (1999-2003), ce pourcentage est élevé. Cependant une part importante de l'information reste actuellement non disponible et peut conduire à une sous-estimation des résultats.

Il est à noter que le programme d'analyses est fonction de l'importance de la population desservie, mais il peut être également adapté en fonction du contexte local (vulnérabilité de la ressource, fonctionnement des installations...). De plus, pour certaines substances dont l'absence au niveau de la ressource garantit leur absence dans l'eau distribuée, la fréquence de contrôle au niveau de la distribution peut être diminuée. Ainsi certains paramètres n'ont pas fait l'objet d'analyses dans certaines UDI au cours de la période considérée.

Les données individuelles des substances sont croisées afin d'obtenir les mesures conjointes par couples de substances.

- Détection conjointe :

La première étape du travail consiste à identifier les UDI et la population desservie pour lesquelles des substances ont été détectées conjointement dans l'eau (tableau 11).

Tableau 11 : nombre d'UDI et détection conjointe des paramètres (Sise-Eaux, DGS-DRASS-DDASS, 2003-2006)

	Arsenic	Antimoine	Baryum	Bore	Cadmium	Chrome	Fluorures	Sélénium
Arsenic		50	1515	764	131	257	1436	417
Antimoine	50		190	28	26	23	141	30
Baryum	1515	190		3269	316	599	7631	952
Bore	764	28	3269		141	255	3261	625
Cadmium	131	26	316	141		70	274	37
Chrome	257	23	599	255	70		574	169
Fluorures	1436	141	7631	3261	274	574		956
Sélénium	417	30	952	625	37	169	956	

Cette étude montre que :

- le baryum, le bore et le fluor sont les substances le plus souvent détectées conjointement avec une autre substance, suivies ensuite par l'arsenic et le sélénium
- le couple fluor/baryum est détecté dans plus de 7600 UDI (plus de 36 millions de personnes desservies), les couples baryum/bore et fluor/bore sont détectés dans plus de 3200 UDI (plus de 20 millions de personnes desservies), enfin les couples arsenic/baryum et arsenic/fluor sont détectés dans plus de 1500 UDI (plus de 6 millions de personnes desservies)

Ce type de données fournit des informations intéressantes car il renseigne sur les couples identifiés conjointement dans les eaux destinées à la consommation humaine. Cependant, il ne renseigne pas sur les concentrations moyennes observées dans les UDI concernées.

- Détection d'une substance et dépassement de l'autre substance :

Cette seconde étape consiste à identifier les UDI et la population desservie pour lesquelles des substances ont été détectées conjointement dans l'eau, dont l'une à une concentration supérieure à la limite de qualité.

Le tableau 12 présente le nombre d'UDI pour lesquelles un paramètre est détecté et l'autre est en dépassement.

Tableau 12 : nombre d'UDI et détection/dépassement conjoints des paramètres (Sise-Eaux, DGS-DRASS-DDASS, 2003-2006)

D E P A S S E M E N T	DETECTION							
	Arsenic	Antimoine	Baryum	Bore	Cadmium	Chrome	Fluorures	Sélénium
Arsenic		18	223	64	19	21	198	28
Antimoine	22		58	14	7	5	45	6
Baryum	14	11		11	2	1	41	7
Bore	1	0	6		0	1	7	2
Cadmium	1	0	4	2		1	3	0
Chrome	0	1	8	1	0		2	0
Fluorures	20	2	67	26	4	3		13
Sélénium	9	4	85	28	4	3	82	

Cette étude met en avant que :

- l'arsenic est associé au plus grand nombre d'UDI concernées par la présence simultanée d'une substance au delà de la limite de qualité et d'une autre substance. Il est suivi par le sélénium, l'antimoine et le fluor
- les couples arsenic (>LQ)/baryum et arsenic (>LQ)/fluor sont détectés dans environ 200 UDI
- les couples sélénium (>LQ)/baryum et sélénium (>LQ)/fluor sont détectés dans environ 80 UDI

- Dépassement conjoint des valeurs réglementaires :

Cette dernière étape consiste à identifier les UDI et la population desservie pour lesquelles des substances ont été détectées conjointement dans l'eau à des concentrations supérieures ou égales à la limite de qualité. Ces données sont référencées dans le tableau 13.

Tableau 13 : nombre d'UDI et dépassement conjoint des paramètres (Sise-Eaux, DGS-DRASS-DDASS, 2003-2006)

	Arsenic	Antimoine	Baryum	Bore	Cadmium	Chrome	Fluorures	Sélénium
Arsenic		11	2	0	1	0	8	3
Antimoine	11		1	0	0	0	0	2
Baryum	2	1		0	0	0	1	0
Bore	0	0	0		0	0	0	0
Cadmium	1	0	0	0		0	0	0
Chrome	0	0	0	0	0		0	0
Fluorures	8	0	1	0	0	0		0
Sélénium	3	2	0	0	0	0	0	

25 UDI sont concernées par des dépassements conjoints sur la période 2003-2006 et desservent au maximum 95230 personnes.

Il convient à présent de s'interroger plus précisément sur le nombre d'habitants desservis par ces unités de distribution, présenté dans le tableau 14.

Tableau 14 : nombre d'habitants et dépassement conjoint des paramètres (Sise-Eaux, DGS-DRASS-DDASS, 2003-2006)

	Arsenic	Antimoine	Baryum	Bore	Cadmium	Chrome	Fluorures	Sélénium
Arsenic		7028	4165	0	70	0	15162	2797
Antimoine	7028		851	0	0	0	0	17541
Baryum	4165	851		0	0	0	1	0
Bore	0	0	0		0	0	0	0
Cadmium	70	0	0	0		0	0	0
Chrome	0	0	0	0	0		0	0
Fluorures	15162	0	1	0	0	0		0
Sélénium	2797	17541	0	0	0	0	0	

Un nombre important d'habitants est mis en évidence pour le couple antimoine/sélénium. Il est utile de préciser que ce couple est le seul couple en dépassement conjoint localisé au niveau d'une unité de distribution desservant plus de 16 000 habitants.

3.3.2. Classement des couples de substances

Le classement décroissant des couples concernés par un dépassement conjoint à partir du critère « nombre d'UDI » est reporté dans la liste A. Le classement décroissant des couples concernés par un dépassement conjoint à partir du critère « nombre d'habitants » est reporté dans la liste B sur la période 2003-2006.

Liste A Critère « nombre d'UDI »	Liste B Critère « nombre d'habitants »
- arsenic/antimoine	- antimoine/sélénium
- arsenic/fluorures	- arsenic/fluorures
- arsenic/sélénium	- arsenic/antimoine
- arsenic/baryum	- arsenic/baryum
- antimoine/sélénium	- arsenic/sélénium
- antimoine/baryum	- antimoine/baryum
- arsenic/cadmium	- arsenic/cadmium
- baryum/fluorures	- baryum/fluorures

L'arsenic est présent dans la majorité des couples (5 couples sur 8). Il est à noter que l'arsenic et l'antimoine sont des éléments présents dans plusieurs couples en dépassement.

Ce travail constitue une première étape pour le classement des couples. Il pourrait être affiné par exemple en identifiant les UDI pour lesquelles ces substances sont détectées à des concentrations inférieures à la limite de qualité mais supérieures à une certaine concentration (50% de la LQ par exemple)

De plus, il serait intéressant de vérifier si les UDI concernées par un couple, le sont aussi par un autre couple.

2^{ème} partie : mise en évidence des UDI et populations concernées par une exposition conjointe As/Sb à l'échelon national sur la période 2003-2006

L'antimoine est un paramètre recherché dans le cadre de la procédure d'autorisation d'un captage.

L'analyse de l'arsenic est prévue dans les ressources souterraines (1 fois tous les 5 ans à 3 fois par an) et au point d'utilisation (1 fois tous les 10 ans à 1 fois par mois).⁷

L'étude des données (Direction Générale de la Santé/DRASS/DDASS – Sise-Eaux) sur la période 2003-2006 montre que :

- les analyses sont disponibles au niveau de 62 % des UDI (soit 18 527 unités) pour l'antimoine et 60 % des UDI (soit 18 012 unités) pour l'arsenic
- la population desservie par ces unités est d'environ 4,5 millions pour l'antimoine et de 8 millions pour l'arsenic

Des données sont disponibles pour un plus grand nombre d'UDI par rapport à la période 1999-2002 où les mesures ont été réalisées respectivement au niveau de 7 et 34 % des UDI.

L'arsenic et l'antimoine sont détectés conjointement dans 52 UDI. Parmi celles-ci, il s'agit d'identifier celles où :

- seul l'arsenic est en dépassement
- seul l'antimoine est en dépassement
- l'arsenic et l'antimoine sont en dépassement conjoint

Lorsque l'arsenic seul est en dépassement, la valeur moyenne de ces non-conformités est proche de 29 µg/L (Cf. annexe 7, tableau a).

Lorsque l'antimoine seul est en dépassement, la valeur moyenne de ces non-conformités est proche de 14µg/L (Cf. annexe 7, tableau b).

Parmi ces données, les non-conformités conjointes en arsenic et antimoine par UDI sont répertoriées dans le tableau 15.

Tableau 15 : caractéristiques des dépassement conjoints en As/Sb (Sise-Eaux, DGS-DRASS-DDASS, 2003-2006)

Nombre d'habitants	As			Sb			Dates premier-dernier prélèvements
	C _{moy} (µg/L)	C _{max} (µg/L)	C _{moy} NC (µg/L)	C _{moy} (µg/L)	C _{max} (µg/L)	C _{moy} NC (µg/L)	
20	35,2	40	35,3	15,8	29,5	19,8	31/03/03-21/09/06
440	31,0	41	31,1	16,0	28,4	18,0	31/03/03-27/11/06
150	12,4	30	24,2	11,6	30	16,5	31/03/03-27/11/06
50	19,6	31,6	21,0	11,8	22,4	12,8	31/03/03-29/11/06
750	15,3	28	18,2	8,5	22,4	10,7	31/03/03-29/11/06
200	23,9	30,8	25,8	5,4	7,7	6,3	18/05/04-18/12/06

NC : non-conformité

C_{max} : concentration maximale, C_{moy} : concentration moyenne

⁷ Arrêté d'application du 11 janvier 2007

L'étude des données Sise Eaux (Direction Générale de la Santé/DRASS/DDASS – Sise-Eaux) sur la période 2003-2006 montre que :

- au moins un dépassement conjoint de la limite de qualité pour les deux substances est enregistré pour 6 unités localisées dans le même département
- au maximum 3220 habitants sont concernés par des pluridépassements
- la concentration maximale en arsenic de ces non conformités est de 40 µg/L et celle en antimoine de 30 µg/L
- les valeurs moyennes des non conformités en arsenic et antimoine sont respectivement de 26 et 14 µg/L sur la période 2003-2006
- la durée des non conformités serait non négligeable et de plusieurs années

Afin de pouvoir confirmer et affiner ces résultats, il conviendrait de prendre contact avec les autorités sanitaires locales. La fréquence des contrôles sanitaires sur la période 2003-2006 permet une analyse pertinente des résultats : des contrôles en arsenic et antimoine ont été effectués pour plus de la moitié des unités de distribution. Par contre, il n'est pas évident de connaître précisément l'évolution et la fréquence des dépassements conjoints au niveau d'un même réseau d'eau étant donné la fréquence plus réduite des mesures de concentrations en antimoine.

Il convient de s'intéresser à présent à l'analyse des données disponibles sur ce couple afin de déterminer si un danger potentiel est associé à la présence conjointe de ces substances.

4. Dangers liés à une exposition au couple arsenic/antimoine

Un travail préliminaire relatif aux toxicités individuelles a été mené dans le cadre du mémoire. La réalisation des profils toxicologiques individuels des substances présentés en annexe 8 a permis de mettre en évidence les points communs et différences concernant leurs comportements dans l'organisme et leurs effets sanitaires.

L'objectif de cette quatrième partie est double :

- à partir des profils toxicologiques, mener une étude comparative des substances et identifier les points communs
- mener une analyse critique des études sur les effets sanitaires conjoints de l'arsenic et de l'antimoine par voie orale pour caractériser les dangers pour la santé issus des actions conjointes entre composés du mélange

4.1. Comparaison et mise en évidence des effets sanitaires communs

4.1.1. Synthèse des points communs et différences

Cette partie se propose de comparer de manière synthétique les profils toxicologiques de l'arsenic et de l'antimoine.

Les principaux points de comparaison sont synthétisés dans le tableau 16.

L'arsenic est un contaminant de l'environnement reconnu pour sa cancérogénicité. Une exposition à long terme à ce composé, principalement par ingestion d'eau, est ainsi associée à une augmentation de cas de cancer. Par comparaison, l'antimoine, élément proche de l'arsenic dans la classification périodique, est un contaminant moins répandu dans l'environnement dont la cancérogénicité n'est pas démontrée.

L'arsenic et l'antimoine ont le point commun d'être des substances génotoxiques qui ont des propriétés clastogènes mais non mutagènes.

L'identification des effets toxiques individuels a conduit à identifier les effets communs suivants : effets gastrointestinaux, cardiaques et hépatiques.

Cependant, les conséquences sur la santé d'une exposition environnementale conjointe ne sont actuellement pas explicitées (Gebel, 2000). En l'état actuel des connaissances, les données de la littérature scientifique se sont intéressées à la comparaison du comportement des deux substances dans l'organisme ainsi qu'à leur effet conjoint *in vitro*.

Tableau 16 : comparaison de l'arsenic et de l'antimoine

	Arsenic	Antimoine
Distribution environnement	+++	+
Transfert de l'environnement à l'homme	+++	+
Niveau de risque sanitaire	+++	+ - ?
Classification	As inorganique : groupe 1 (CIRC, 2002), groupe 1 (US-EPA IRIS, 1998) « cancérogène pour l'homme »	Sb ₂ O ₃ :groupe 2B (CIRC, 1989) « cancérogène possible pour l'homme »
Effet cancérogène	Voie orale : Peau – poumons – vessie – foie – rein +++	Aucune preuve par voie orale. Poumons : femelles de rats Wistar (Groth <i>et al.</i> , 1986) par inhalation
Toxicocinétique		
Espèces actives	V :H ₂ AsO ₄ ⁻ /HAsO ₄ ²⁻ III : H ₃ AsO ₃	V : Sb(OH) ₆ ⁻ III : Sb(OH) ₃
Absorption (ordre de grandeur)	As(III) : 80 % As(V) : 60 %	APT (tartrate d'antimoine de potassium) : 5% (homme), 15 % (souris), 10-20 % (rat) SbCl ₃ : 15-20 % (vaches), souris ((7%)
Distribution	Tout l'organisme et en particulier : foie, reins, peau, tissu osseux, muscles	foie, reins, globules rouges, rate, cœur, tissu osseux, thyroïde, (peau, cheveux)
Métabolisme	As(V)→ As(III)→ MMA→DMA via une conjugaison GSH	Sb(V) →Sb(III) ? Conjugaison non démontrée Faible potentiel de méthylation
Elimination (chez l'homme)	Principalement dans les urines- DMA (60-70 %) MMA (10-15 %) As(III) et As(V) (10-15 %)	Principalement dans les urines
Temps de demi-vie biologique (homme)	30-40 h	24 h Sb(V) 30 – 40 h Sb(III)
Temps de demi-vie biologique (hamsters)	13 h	-
Affinité pour les groupements thiols	+++ (Bogdan <i>et al.</i> , 1994)	+ (Basinger et Jones, 1981)
Réactions avec l'ADN	Non mutagène (Rossman, 1981) Clastogénique (Lerda, 1994 ; Gebel <i>et al.</i> , 1997a) Induction de croisement de protéines +++ (Gebel <i>et al.</i> , 1998b ; Yamanaka <i>et al.</i> , 1993)	Non mutagène (Kuroda <i>et al.</i> , 1991) Clastogénique (Gebel <i>et al.</i> , 1997a ; Gebel, 1998a ; Kuroda <i>et al.</i> , 1991) Induction de croisement de protéines + (Gebel <i>et al.</i> , 1998b)
Mécanisme de génotoxicité	Inhibition de la réparation de l'ADN, stress oxydatif ?, déplétion GSH ? Autres ?	? ? ?

4.1.2. Comportement dans l'organisme

Absorption

Les composés de l'arsenic s'absorbent relativement facilement dans le tractus gastrointestinal. As(V) et As(III) s'incorporent respectivement à 60 et 80 % (Gebel, 1997b).

Par contre, l'absorption de l'antimoine est plus faible, de l'ordre de 20 % chez la souris. Le taux d'absorption de l'antimoine inorganique chez l'homme n'est pas connu. (Gerber *et al.*, 1982 ; Van Bruwaene *et al.*, 1982).

Distribution

L'As(III) passe plus aisément les membranes par rapport à l'As(V) et est retenu davantage dans les cellules (Bertolero *et al.*, 1987 ; Lerman *et al.*, 1983).

Par contre, peu de données sont disponibles concernant le passage membranaire, les mécanismes d'oxydoréduction du métabolisme et la spéciation de l'antimoine.

Les formes pentavalentes de l'arsenic et de l'antimoine sont chargées dans l'organisme. L'arséniate est la forme majoritaire dans le milieu biologique en part égale entre H_2AsO_4^- et HAsO_4^{2-} . L'antimoine est présent sous forme $\text{Sb}(\text{OH})_6^-$.

Les espèces inorganiques trivalentes de l'arsenic et l'antimoine correspondent aux formes anioniques de l'arsénite AsO_2^- et de l'antimonite SbO_2^- .

Dans le milieu biologique, les espèces trivalentes sont présentes majoritairement sous forme de H_3AsO_3 et $\text{Sb}(\text{OH})_3$ non chargées.

La présence de charges a une influence importante sur l'activité biologique des composés d'arsenic et d'antimoine. Par exemple, l'absorption cellulaire d'arséniate chargée est moins importante que celle d'arsénite non chargée (Bertolero *et al.*, 1987 ; Lerman *et al.*, 1983). Par ailleurs, As(III) et Sb(III) non chargés ont la capacité de s'accumuler dans des cellules V79 de fibroblastes pulmonaires de hamsters (Gebel *et al.*, 1997a).

Ces éléments suggèrent que les formes trivalentes non chargées ont la capacité de traverser les membranes cellulaires par diffusion à la différence des formes pentavalentes chargées.

Arsenic et antimoine s'accumulent en particulier dans le foie et les reins (Dieter *et al.*, 1991 ; Vahter et Marafante, 1983 ; Pomroy *et al.*, 1980).

Par ailleurs, des teneurs élevées en arsenic peuvent être observées dans les poumons (Vahter et Marafante, 1983) tandis que l'antimoine est présent davantage dans la rate et le sang. La présence d'antimoine dans le sang s'explique par son affinité avec les érythrocytes (Dieter *et al.*, 1991).

Métabolisme

De manière générale, l'arsenic est métabolisé par réduction, conjugaison avec le glutathion (GSH) et méthylation dans le foie chez les mammifères. Cependant, des écarts importants sont observés selon les espèces. Par exemple, aucune méthylation de l'arsenic n'a été mise en évidence chez le chimpanzé (Vahter *et al.*, 1995 ; Vahter et Marafante, 1985). Chez l'homme, il est démontré que le métabolite de l'arsenic MMA est moins important par rapport au DMA.

Des écarts sont également constatés en fonction des cellules. A la différence des cellules de fibroblastes, la culture d'hépatocytes primaires a révélé une importante capacité de méthylation de ces cellules (Lerman *et al.*, 1983).

La méthylation est ainsi considérée comme une étape importante dans le métabolisme de l'arsenic. Cependant, des interrogations persistent concernant la connaissance de ce phénomène.

Concernant le métabolisme de l'arsenic, deux particularités sont à noter :

- les intermédiaires de réaction (MMA et DMA) issus de la méthylation de l'arsenic sont soupçonnés d'avoir des propriétés cytotoxiques et génotoxiques égales ou supérieures à celle de l'As(III) (Bode et Dong, 2002 ; Aposhian *et al.*, 2000 ; Petrick *et al.*, 2000).
- l'existence d'un polymorphisme de la méthylation de l'arsenic selon les populations est démontrée. Par exemple, une étude réalisée sur des femmes de la région des Andes a montré une faible élimination de l'arsenic dans les urines de l'ordre de 2 % en MMA (Vahter *et al.*, 1995).

A la différence de l'arsenic, une faible quantité de la forme pentavalente de l'antimoine est réduite en forme trivalente dans l'organisme. Chez l'homme et les rongeurs, seul 5 à 10 % de l'antimoine est réduit en Sb(III) (Chulay *et al.*, 1988).

La mise en évidence d'une méthylation de l'antimoine est discutée chez les mammifères. *Bien que l'antimoine ne semble pas subir de méthylation, il semble qu'il inhibe celle de l'arsenic in vitro* (Buchet et Lauwerys, 1985 ; Bailly, 1991).

Ce phénomène tend à majorer le risque lié à la présence de ces substances et est important en terme d'évaluation des risques.

Il est à noter que l'affinité de l'arsenic pour les groupements thiols est appuyée d'une part, par son métabolisme via sa conjugaison avec le GSH et d'autre part, par le fait que ce composé crée des doubles liaisons ADN-protéines.

Par comparaison, l'affinité de l'antimoine pour les groupements thiols et sa capacité à provoquer des doubles liaisons avec l'ADN sont bien inférieures à celles de l'arsenic (Gebel, 1997b).

Excrétion

Les formes inorganiques et méthylées de l'arsenic sont éliminées principalement par les urines. Le principal produit est le DMA présent à 60-70% tandis que le MMA est présent à 10-15 %. Une excrétion significative de MMA est démontrée uniquement chez l'homme (Vahter, 1994).

As(III) et As(V) sont présents dans les urines en faible proportion de l'ordre de 15%.

Les formes Sb(V) et Sb(III) de l'antimoine sont éliminées préférentiellement au niveau des reins *in vivo* (Winship, 1987).

L'élimination de l'antimoine et de l'arsenic conjugués avec le GSH via la bile est un phénomène démontré uniquement chez le rat.

Une grande partie de As(V) étant éliminé sans passage intracellulaire, ce composé présente une toxicité limitée (Crecelius, 1977).

La cinétique d'élimination de l'arsenic est relativement complexe du fait des cinétiques propres à chaque composé As(V), As(III), MMA et DMA (Buchet *et al.*, 1980).

Concernant l'élimination de l'antimoine, les données *in vivo* sont hétérogènes. Il semble que Sb(V) soit éliminé plus rapidement que Sb(III) (Vahter, 1994, Rees *et al.*, 1980).

4.1.3. Effets toxiques

Les effets toxiques de l'arsenic et l'antimoine sont synthétisés dans le tableau 17.

Tableau 17 : synthèse des effets toxiques de l'arsenic et l'antimoine

	Antimoine				Arsenic			
	Homme	<i>In vivo</i>	Confiance F-M-H	Toxicité	Homme	<i>In vivo</i>	Confiance F-M-H	Toxicité
Effets gastrointestinaux	✓	✓	M	a	✓ j	✓	H	a
Effets cutanés	NO	NO			✓	✓	H	sc et c
Effets respiratoires	NE	NE	-	-	✓	NE	L	a
Effets cardiaques	NE	✓	M	a	✓	✓	M	c
Effets vasculaires	NE	NO	-	sc et c	✓	✓	H	sc et c
Effets hématologiques	NO	✓	L	sc	✓	NO	H	sc
Effets hépatiques	NO	✓	M	-	✓	✓	M	sc
Effets sur les reins	NO	NE	L	-	NO	✓	M	sc
Effets sur le développement	NO	NO	L	-	✓	✓	M	sc et c
Effet sur la reproduction	NO	NE	L	-	✓	✓	M	sc et c
Effets neurologiques	NO	✓	L	-	✓	✓	H	sc

NO : non observé

NE : non étudié

✓ : validé

Toxicité aiguë : a

Toxicité subchronique : sc

Toxicité chronique : c

Confiance : F faible, M moyenne, H haute

La synthèse des effets toxiques individuels a conduit à identifier les effets communs suivants : effets gastrointestinaux, cardiaques et hépatiques.

Cancérogénicité

Il est démontré que l'ingestion d'arsenic conduit à l'augmentation de l'apparition de cancers.

Par contre, le caractère cancérogène de l'antimoine n'est pas établi. Seules des expériences réalisées par inhalation sur des rats femelles ont mis en évidence l'apparition de cancers des poumons (Groth *et al.*, 1986). Les connaissances sur la toxicité de l'antimoine sont insuffisantes pour évaluer son effet sur la santé. Ce constat constitue une limite importante en vue de mener une évaluation des effets du mélange arsenic/antimoine.

Génotoxicité *in vitro* et *in vivo*

Antimoine et arsenic développent une activité génotoxique *in vitro*. Ils ont des propriétés clastogènes mais ne sont pas directement mutagènes (Rossman, 1981 ; Kuroda *et al.*, 1991).

A la différence de l'arsenic, peu de données sont disponibles concernant la génotoxicité de l'antimoine. Seule l'hypothèse d'une augmentation du stress oxydant a été soulevée dans une étude *in vitro* sur des myocytes cardiaques primaires (Tirmenstein *et al.*, 1995).

Le mécanisme d'action génotoxique de l'arsenic est inconnu. Cependant, les pistes suivantes sont évoquées :

- liaison avec les groupements thiols des protéines
- augmentation du stress oxydant
- altération de la méthylation de l'ADN
- inhibition de la réparation de l'ADN observée *in vitro*

Une affinité de l'arsenic avec les groupements thiols pourrait intervenir dans certains mécanismes. Ces points demandent demande à être approfondis afin de préciser leur influence sur le caractère génotoxique de l'arsenic.

Le tableau 18 synthétise les informations sur la génotoxicité et cancérogénicité de l'antimoine et l'arsenic et précise le niveau de confiance (Faible : L, moyen : M, haut : H).

Tableau 18 : génotoxicité et cancérogénicité de l'antimoine et l'arsenic

	Antimoine				Arsenic			
	Homme	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>	Confiance L-M-H	Homme	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>	Confiance L-M-H
Génotoxicité	NE	✓	✓	L	✓	✓	✓	M
Cancérogénicité	NE	NO	-	-	✓	✓	-	H

NO : non observé

NE : non étudié

✓ : validé

Gebel *et al.* (1997b) précisent que la génotoxicité de l'arsenic et l'antimoine peut être influencée par leur capacité à traverser les membranes et par leurs réactions métaboliques à l'intérieur des cellules.

Le potentiel génotoxique est fortement influencé par la valence des composés. Il est démontré que l'As(III) a une génotoxicité plus élevée que celle de l'As(V) (Bertolero *et al.*, 1987). L'arsenic évolue dans l'organisme sous forme trivalente et exerce un effet génotoxique principalement sous cette forme (Gebel, 1997b).

Concernant l'antimoine, les formes pentavalentes Sb₂O₅ et SbCl₅ ne conduisent pas à des échanges de chromatides dans des cellules V79 de fibroblastes pulmonaires (Kuroda *et al.*, 1991).

Une attention particulière doit être portée aux métabolites issus de l'arsenic MMA et DMA qui sont susceptibles d'avoir une génotoxicité supérieure à celle de As(III). Il semble que le DMA puisse causer *in vitro* des dommages au niveau de l'ADN des cellules pulmonaires (Yamanaka et Okada, 1994). Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer cette observation (Gebel, 1997b).

4.2. Etudes toxicologiques conjointes

4.2.1. Méthodes et résultats

En l'état actuel des connaissances, les études conjointes disponibles pour le couple arsenic/antimoine sont réalisées in vitro.

Les principaux tests utilisés *in vitro* sont les suivants : test de cytotoxicité, test du micronoyau (MN) et test de l'échange de chromatides-sœurs (« Sister chromatide exchange » SCE). Les références disponibles sur le sujet sont présentées dans le tableau 19 et ont été obtenues avec les moteurs de recherche Scopus et Pubmed dont les mots-clés sont présentés en annexe 9.

Tableau 19 : effets génotoxiques individuels et conjoints de l'arsenic et l'antimoine

Cellules	Test	Gammes doses μM	Effet	Doses μM	Référence
Lymphocytes humains	Cytotoxicité	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0 \text{ à } 5$	Cytotoxicité	$\text{As}_2\text{O}_3 = 5$	Gebel <i>et al.</i> , 1997a
		$\text{Sb}_2\text{O}_3 = 0 \text{ à } 5$		$\text{Sb}_2\text{O}_3 = 5$	
		$\text{SbCl}_3 = 0 \text{ à } 10$		$\text{Sb}_2\text{Cl}_3 = 10$	
	SCE	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0 \text{ à } 5$	Génotoxicité	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0,5 \text{ et } 1$	
		$\text{Sb}_2\text{O}_3 = 0 \text{ à } 5$		$\text{Sb}_2\text{O}_3 = 0,5 \text{ et } 1$	
		$\text{SbCl}_3 = 0 \text{ à } 10$		$\text{SbCl}_3 = 1 \text{ et } 2$	
	Cytotoxicité	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0-0,01-0,1-0,5-1-2$	Génotoxicité moins qu'additive	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0,1-0,5 \text{ et } 1$ et $\text{SbCl}_3 = 1$	
$\text{SbCl}_3 = 1$		Cytotoxicité additive	$\text{As}_2\text{O}_3 = 2$ et $\text{SbCl}_3 = 1$		
SCE	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0-0,01-0,1-0,5-1-2$	Génotoxicité moins qu'additive	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0,1-0,5 \text{ et } 1$ et $\text{Sb}_2\text{O}_3 = 1$		
Cytotoxicité	$\text{Sb}_2\text{O}_3 = 1$	Cytotoxicité additive	$\text{As}_2\text{O}_3 = 2$ et $\text{Sb}_2\text{O}_3 = 1$		
Cellules V 79 hamster	Cytotoxicité	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0,5 \text{ à } 12,5$	Cytotoxicité : 50 % survie	$\text{As}_2\text{O}_3 = 12,5$	Gebel <i>et al.</i> , 1998a
		$\text{SbCl}_3 = 0-0,5-1-5-10-25-50$	Cytotoxicité : 50 % survie	$\text{SbCl}_3 = 75$	
		$\text{As}_2\text{O}_3 = 0,5 \text{ à } 12,5$ et $\text{SbCl}_3 = 10$ ou 50	Cytotoxicité : 50 % survie	$\text{As}_2\text{O}_3 = 15$ $\text{SbCl}_3 = 10$ $\text{As}_2\text{O}_3 = 10$ $\text{SbCl}_3 = 50$	
	MN	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0-0,05-0,25-0,5-1-2,5-5-$	Génotoxicité	$\text{As}_2\text{O}_3 = 1-2,5-5$	
		$\text{SbCl}_3 = 0-0,5-1-5-10-25-50$	Génotoxicité	$\text{SbCl}_3 = 25 \text{ et } 50$	
		$\text{As}_2\text{O}_3 = 2$ et $\text{SbCl}_3 = 0-1-5-10-25$	Génotoxicité moins qu'additive	$\text{As}_2\text{O}_3 = 2$ et $\text{SbCl}_3 = 1-5-10-25$	
Hépatocytes primaires de rats	Cytotoxicité		Cytotoxicité	$\text{As}_2\text{O}_3 = 1$	Hasgekar <i>et al.</i> , 2006
			Cytotoxicité	$\text{SbCl}_3 = 10$	
			Cytotoxicité additive	$\text{As}_2\text{O}_3 = 2,5$ et $\text{SbCl}_3 = 10 \text{ et } 25$	
Lymphocytes humains	Cytotoxicité		Cytotoxicité additive	$\text{As}_2\text{O}_3 = 0,5$ et $\text{SbCl}_3 = 5$	Schaumlöffel <i>et al.</i> , 1998
	MN		Génotoxicité additive	$\text{As}_2\text{O}_3 = 2$ et $\text{SbCl}_3 = 2,5 \text{ et } 10$	

Remarque : 1 μM As = 75 $\mu\text{g/l}$ et 1 μM Sb = 122 $\mu\text{g/l}$ (McCarty *et al.*, 2004).

Gebel *et al.* (1998a) ont cherché à déterminer le mode d'action conjoint de l'arsenic et de l'antimoine sur des cellules de mammifères.

Ils ont procédé en deux temps : tout d'abord, un test de cytotoxicité pour déterminer une gamme de doses qui n'altèrent pas les cellules ; ensuite une étude de génotoxicité par le test du micronoyau.

D'après les tests effectués sur des cellules V79 de hamster, il apparaît que l'antimoine Sb(III) est moins cytotoxique et génotoxique par rapport à l'arsenic.

Les formes trivalentes As_2O_3 et SbCl_3 ont été testées de manière individuelle puis combinée sur des cellules de hamsters chinois V79 (fibroblastes pulmonaires).

Les résultats concernant la cytotoxicité sont les suivants :

- pour une même dose appliquée aux cellules, le pourcentage de cellules viables est plus élevé pour l'antimoine par rapport à l'arsenic. Il apparaît que l'antimoine Sb(III) est moins cytotoxique par rapport à l'arsenic (Gebel *et al.*, 1997a et 1998a).
- l'ajout conjoint de Sb(III) et As(III) conduit à une diminution significative du pourcentage de cellules viables. L'augmentation de la quantité de Sb associée conduit à une diminution du pourcentage de cellules viables.
- la cytotoxicité conjointe est décrite de manière satisfaisante par une addition des effets toxiques de l'arsenic As(III) et de l'antimoine Sb(III) (Gebel *et al.*, 1997a et 1998a).

Les résultats concernant la génotoxicité sont les suivants :

- l'addition des effets obtenus suite à l'application individuelle des substances est supérieure au résultat obtenu par application combinée des substances. SbCl₃ conduit donc à diminuer la formation de micronoyaux dans les cellules en présence d'As₂O₃.
- la mutation des chromosomes induite par l'As(III) est inhibée de façon significative par l'antimoine (Gebel *et al.*, 1998b).
- les résultats montrent une génotoxicité de l'arsenic 10 fois supérieure à celle de l'antimoine (Gebel *et al.*, 1997 et 1998a).
- les génotoxicités de l'antimoine et de l'arsenic semblent s'exercer par une inhibition de la réaction de réparation de l'ADN, bien que des investigations supplémentaires soient nécessaires (Gebel *et al.*, 1998b).

Des expérimentations récentes menées par Hasgekar *et al.* (2006) sur des hépatocytes de rats confirment les expériences de Gebel *et al.* (1997a et 1998a) et Schaumlöffel (1998) :

- les tests de cytotoxicité combinés indiquent une action conjointe additive
- les essais individuels de génotoxicité mettent en évidence une augmentation significative du nombre de micronucléi pour As (à 1 µM) et Sb (à 10 µM). Ce rapport de doses révèle que l'arsenic est plus génotoxique par rapport à l'antimoine.
- la génotoxicité du mélange déterminée expérimentalement est inférieure à celle calculée en supposant une additivité des effets : l'effet conjoint du mélange est *à priori* subadditif.

Les études montrent un effet génotoxique individuel *in vitro* de l'antimoine et de l'arsenic. Les résultats des différentes études sont cohérents et mettent en évidence une cytotoxicité additive et un effet génotoxique conjoint moins qu'additif de l'arsenic et l'antimoine (Gebel *et al.*, 1997a ; Gebel, 1997b ; Gebel, 1998a ; Hasgekar *et al.*, 2006). Les résultats de ces études encouragent la poursuite des études par la mise en place d'expérimentations *in vivo*.

4.2.2. Représentativité des concentrations expérimentales

Lors de l'évaluation de l'influence d'une substance sur les effets toxiques d'une autre substance, il convient de s'interroger sur la représentativité des concentrations utilisées.

Il est important de noter qu'il n'est pas pertinent de comparer des concentrations utilisées in vitro aux doses externes d'exposition mesurées sur le terrain. Il aurait été pertinent de baser la comparaison sur des doses in vivo.

Pour information, des prélèvements d'eau effectués au Bangladesh mettent en évidence des teneurs en arsenic entre 1 et 747 µg/l avec une moyenne de 262 µg/L tandis que les teneurs en antimoine sont inférieures à 1 µg/l (McCarty *et al.*, 2004).

Des prélèvements effectués en Iran révèlent des concentrations en arsenic et antimoine supérieures aux valeurs réglementaires avec des valeurs moyennes de 97.1 et 59.9 µg/L (Ghassemzadeh *et al.*, 2006).

Les concentrations en arsenic et antimoine mesurées en France sont comprises respectivement entre 5,26 et 1,95 µg/L pour les valeurs moyennes et entre 187 et 41 µg/L pour les maximums (Données Sise-Eaux, Ministère de la santé, France, 2003-2006).

Dans les expériences, l'étude conjointe de Gebel *et al.* (1997a) est réalisée pour des doses d'arsenic de 7,5-34,5-75 µg/l et d'antimoine de 120 µg/L. Dans l'étude menée par Gebel *et al.* (1998a), les expériences conjointes sont menées pour des doses d'arsenic de 150 µg/L et d'antimoine de 120-600-1200-3000 µg/L.

Les cellules sont mises en cultures et traitées directement avec des solutions d'As₂O₃ et SbCl₃ : ceci n'est pas représentatif d'une exposition au couple de substances par ingestion d'eau. Les écarts entre les doses ne permettent en ce sens pas d'appuyer une démonstration suffisante de l'influence de l'antimoine sur la toxicité de l'arsenic.

4.2.3. Etudes de terrain

Des incertitudes concernant l'exposition des populations à de l'arsenic et d'autres substances préoccupantes dans les eaux ont conduit à mesurer les concentrations conjointes en plusieurs éléments. Les échantillons d'eau sont prélevés dans des régions caractérisées par de fortes teneurs en arsenic (Ghassemzadeh *et al.*, 2006 ; MacCarty *et al.*, 2004 ; Frisbie *et al.*, 2002).

Les relations entre arsenic et antimoine n'ayant pas été étudiées *in vivo* à des niveaux d'exposition pertinents, des équipes se sont intéressées à la détermination des concentrations en antimoine dans des régions où les populations sont exposées conjointement à de l'arsenic. L'objectif est d'améliorer les connaissances relatives à une exposition à deux substances présentes conjointement dans l'environnement.

Des travaux menés par le département de santé environnementale de Harvard School of Public Health se sont intéressées aux concentrations en arsenic et antimoine dans une région du Bangladesh (McCarty *et al.*, 2004). Des échantillons d'eau de surface sont étudiés sur la période 2001-2002. Une cinquantaine d'échantillons ont des teneurs en arsenic supérieures à 50 µg/L avec une valeur moyenne de 262 µg/L. Pour les 245 échantillons, les concentrations en arsenic se situent entre 1 et 747 µg/l et celles en antimoine sont inférieures à 1 µg/l (McCarty *et al.*, 2004).

Ces résultats confirment les mesures d'une étude américaine réalisée en association avec un laboratoire du CNRS dans une région du Bangladesh (Frisbie *et al.*, 2002).

Les concentrations en antimoine sont toutes inférieures aux valeurs fixées par l'OMS et US-EPA : 98% des 112 échantillons se situent en-dessous du seuil de détection. Par contre, 49 % des concentrations en arsenic sont supérieures aux valeurs réglementaires. Il est important de noter que 97 % des échantillons sont caractérisés par des teneurs conjointes en arsenic et antimoine.

Les résultats n'ont pas permis d'établir une relation entre concentrations en arsenic et antimoine. Les concentrations en antimoine sont faibles et largement inférieures aux valeurs réglementaires (MacCarty *et al.*, 2004 ; Frisbie *et al.*, 2002).

A la différence des études précédentes (McCarty *et al.*, 2004 ; Frisbie *et al.*, 2002), une étude réalisée dans le nord de l'Iran a mis en évidence des concentrations en arsenic et antimoine conjointement supérieures aux valeurs réglementaires respectives de 10 et 5 µg/L avec des valeurs moyennes de 97.1 et 59.9 µg/L (Ghassemzadeh *et al.*, 2006).

Les causes de décès sont analysées en vue d'établir une relation éventuelle entre ingestion d'eau contaminée à de l'arsenic et de l'antimoine et mortalité sur la période 1995-2002. Les décès sont liés à des cancers des appareils digestifs et pulmonaires. Aucun décès par lésions cutanées n'est reporté dans la région d'étude.

Par comparaison avec l'échantillon témoin, cette étude a permis de confirmer l'apparition plus prononcée de cancers au niveau d'une population exposée à des pluridépassements d'arsenic et d'antimoine. Cependant, les résultats ne permettent pas d'apporter des précisions relatives aux relations entre antimoine et arsenic. Etant donné les concentrations élevées en arsenic et le caractère cancérigène avéré de cette substance, les cas de cancers mis en évidence dans cette région peuvent être uniquement issus d'une exposition à ce composé. Il aurait été intéressant de comparer la population d'étude à un groupe exposé uniquement à de l'arsenic afin d'avoir des pistes de réflexion sur un effet potentiel de l'antimoine sur l'arsenic.

Il est à noter que les problèmes de nutrition recensés dans ces régions peuvent conduire à une sensibilité plus marquée de la population d'étude à l'arsenic et induire un biais dans l'étude.

4.3. Pertinence de mener une évaluation des risques

Les résultats de ces études révèlent l'importance de poursuivre les travaux afin de déterminer l'influence de l'antimoine sur les effets toxiques de l'arsenic *in vivo*.

Les connaissances sont insuffisantes pour l'antimoine. Les données concernant l'arsenic s'appuient sur des données épidémiologiques nombreuses et sont plus solides.

Bien que les organes cibles soient identifiés, de nombreuses incertitudes persistent concernant les mécanismes d'action de chacune des deux substances.

Les données disponibles sur le couple ne permettent pas de caractériser le danger lié à une exposition conjointe et donc de réaliser une évaluation des risques. En l'état actuel des connaissances, il est démontré que l'arsenic et l'antimoine ont des propriétés et des actions communes dans l'organisme sur les systèmes hépatiques, intestinaux et cardiaques. Cependant, les données d'actions conjointes sont insuffisantes car elles s'intéressent uniquement à l'effet génotoxique. En outre, elles sont réalisées uniquement *in vitro* avec des doses non représentatives. Ces données tendent à montrer un effet génotoxique conjoint *a priori* moins qu'additif. Il n'est pas pertinent de s'appuyer sur cet effet *in vitro* pour mener une évaluation des risques.

Afin de mener une évaluation des risques, une perspective intéressante de recherche est de s'intéresser à la compréhension du rôle de l'antimoine dans les mécanismes de modulation de la toxicité de l'arsenic.

Un premier mécanisme potentiel de modulation est basé sur les affinités et la compétition de l'arsenic et de l'antimoine au niveau de groupes identiques et les conséquences de ces affinités sur la toxicité des substances.

L'arsenic et l'antimoine semblent avoir de l'affinité pour les groupes sulfhydryles. Ainsi, la diminution de l'effet génotoxique combiné observé pourrait être associée à ce phénomène de compétition (Gebel *et al.*, 1998a).

Un autre mécanisme potentiel de modulation de la toxicité de l'arsenic est la modification du métabolisme de l'arsenic en présence d'autres éléments au niveau du foie. Des études expérimentales récentes ont été réalisées afin de caractériser l'influence de l'antimoine, du sélénium et du mercure sur la cytotoxicité, génotoxicité et l'élimination de l'arsenic. Ces éléments ont été choisis d'une part pour leur présence conjointe dans les eaux de consommation ou par voie alimentaire et d'autre part pour leur influence potentielle sur la méthylation de l'arsenic. Cette étude n'a pas montré une influence de l'antimoine sur le métabolisme de l'arsenic (Hasgekar *et al.*, 2006) et contredit d'autres études selon lesquelles l'antimoine inhiberait la méthylation de l'arsenic *in vitro* (Buchet et Lauwerys, 1985, Bailly *et al.*, 1991). *Cependant, il est important de retenir que la compréhension des réactions du métabolisme des substances constitue un point-clé en terme d'évaluation des risques (Vahter, 1995 ; Hasgekar et al., 2006).*

5. Proposition d'une démarche d'évaluation des risques

L'objectif de cette partie est de fournir les éléments nécessaires pour mener une méthodologie d'évaluation des risques liés à des mélanges de deux substances présentes dans les eaux de consommation.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la réflexion du groupe de travail de l'Afssa. Etant donné la complexité de l'exercice, le mémoire s'intéresse aux couples de substances faisant l'objet d'une limite de qualité dans l'eau.

5.1. Connaissances sur les risques liés aux mélanges dans les eaux de consommation

5.1.1. Bilan des mélanges étudiés dans les eaux destinées à la consommation humaine

Des études récentes ont éprouvées des méthodologies d'évaluation des risques pour les mélanges dans les eaux. Des références scientifiques nombreuses s'intéressent davantage aux dangers présentés par des mélanges de substances à l'exemple des travaux publiés par le NTP sur la toxicité d'un mélange de 25 contaminants des eaux souterraines (NTP, 1993). Cependant, un nombre plus limité d'études propose une démarche d'évaluation des risques dans les eaux de consommation.

Dans le domaine des eaux de consommation, différentes approches ont été utilisées afin de fournir des éléments pour évaluer les risques liés à la présence simultanée de substances faisant l'objet d'une limite de qualité et appartenant à des mêmes familles :

- Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) : la démarche des TEQ est utilisée en première approche pour évaluer la toxicité du mélange (Afssa, Evaluation de l'exposition aux HAP dans l'eau de boisson et réflexion sur l'éventuel risque sanitaire associé. Septembre 2006⁸ ; OMS, 1998 ; IPCS, 1998)
- Pesticides : en l'état actuel des connaissances, les données sur les effets des molécules en mélanges restent encore très fragmentaires et ne permettent pas d'intégrer cet aspect dans l'évaluation des risques. Pour ce travail, en cas de présence de pesticides en mélange, un effet additif a été considéré. (ORP-Afssa/Afsse/Ifen, 2004 ; US-EPA, 2003)
- Trihalométhanes (InVS, Evaluation des risques sanitaires des sous-produits de chloration de l'eau potable. Mai 2007 ; Santé Canada, 2004, US-EPA, 2000 et 2003)
- Acides haloacétiques (Santé Canada, 2004)
- Tétrachloroéthylène et trichloroéthylène : La démarche proposée se fonde sur les travaux de l'ATSDR (2004). Dans la mesure où les données expérimentales restent encore fragmentaires et où la limite de qualité porte conjointement sur les deux substances, le groupe de travail propose d'adopter une démarche conservatrice et identique à celle qui supposerait que le mode d'action de ces deux substances est caractérisé par l'additivité des effets (Afssa, Evaluation des risques sanitaires liés au dépassement de la limite de qualité du trichloroéthylène et du tétrachloroéthylène. Décembre 2006).

L'ATSDR s'est intéressée à des mélanges de substances non spécifiques de l'eau potable (ATSDR, 2004). Afin de prioriser les mélanges à étudier, l'ATSDR s'est focalisée sur des substances présentes conjointement au niveau de sites identifiés.

⁸ Etude issue du rapport Afssa. Evaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassements des limites et références de qualité des eaux destinées à la consommation humaine. 2007

5.1.2. Couples de substances étudiées par ATSDR non spécifiques des eaux destinées à la consommation humaine

Il est important de souligner que la démarche proposée par ATSDR ne constitue pas une évaluation complète des risques. Il s'agit davantage d'une synthèse des informations relatives aux effets sanitaires communs des mélanges par voie orale. A partir des effets sanitaires communs identifiés, l'ATSDR recommande de calculer l'indice de danger (« Hazard Index HI ») puis de déterminer l'influence des interactions sur l'additivité présupposée du mélange par calcul des coefficients « WOE ». Ceci conduit à définir si les effets du mélange sont additifs, moins qu'additifs ou plus qu'additifs.

Les couples de substances étudiées par ATSDR (2004) par cette approche sont présentés dans le tableau 20.

Tableau 20 : couples de substances réglementées par le code de la santé publique et étudiées par l'ATSDR (2004)

Couples A/B	Résultats			
	Effet de A sur B	Confiance	Effet de B sur A	Confiance
As/Cd	Indéterminé (n, r, c)	F	Indéterminé (n, c)	F
	< (h)	F	> (r) < (h)	M F
As/Cr	< (n)	F	> (n)	F
	< (r)	F	< (r)	F
	NE (c)		> (c)	F
	< (h)	F	> (h)	F
As/Pb	> (n)	M	> (n)	F
	< (r)	F	< (r)	F
	Indéterminé (c)	F	Indéterminé (c)	F
	< (h)	F	< (h)	F
Cd/Cr	Indéterminé (n, r, h) NE (c)	F	Indéterminé (n, r, c, h)	F
Cd/Pb	> (n)	F	Indéterminé (n)	F
	< (r)	M	Additivité (r)	M
	Additivité	F	Additivité (c)	F
	< (h)		Additivité (h)	M
Cr/Pb	Indéterminé (n, r, c, h)	F	Indéterminé (n, r, h) NE (c)	F
Pb/Mn	Additivité (n)	F	Additivité (n)	H
Pb/Zn	Additivité (h)	M	< (n et h)	H
Pb/Cu	Additivité (hep)	F	< (n et h)	H
Mn/Zn	Indéterminé (h)	F	Indéterminé (n)	F
Mn/Cu	Indéterminé (hep)	F	Indéterminé (n)	F
Zn/Cu	< (hep)	H	< (h)	M
Hg/Pb	Indéterminé (n)	F	> (rep)	F
Cyanures/nitrates	Indéterminé	F	Indéterminé	F
Fluorures/nitrates	Indéterminé	F	Indéterminé	F
Pesticides (atrazine et simazine)/nitrates	> (k)	M	> (k)	M

Confiance : F : faible- M : moyenne- H : haute

< effet moins qu'additif > effet plus qu'additif

n : effet neurologique, r : effet rénal, c : effet cardiovasculaire, k : effet cancérigène

h : effet hématologique, hep : effet hépatique, rep : effet sur la reproduction

Les données fournies par ce tableau permettent en première approche d'avoir une indication sur le type d'actions entre les substances et les incertitudes associées en cas d'exposition à ces composés par voie orale.

Il est intéressant de s'interroger à présent sur les critères permettant d'identifier les couples prioritaires à étudier par la suite par le groupe de travail de l'Afssa.

Etant donné le nombre de substances faisant l'objet d'une limite de qualité dans l'eau, l'étude de l'ensemble des couples nécessite donc un travail important. La première étape du travail à conduire passe donc par une identification des couples d'intérêt dans l'eau de boisson en s'intéressant d'une part à la toxicité des substances et d'autre part à l'exposition de la population française à ces couples.

5.2. Identification des couples prioritaires

L'identification des couples prioritaires est basée sur les trois critères suivants :

- la mise en évidence d'effets sanitaires préoccupants communs : mécanisme et/ou organes cibles identiques
- la disponibilité des données scientifiques
- l'identification d'une exposition conjointe à l'échelon national⁹

Concernant le 1^{er} critère, une première étape consisterait en la réalisation d'un tableau de synthèse rassemblant, pour chaque substance, les effets critiques et les VTR afin d'identifier les substances présentes dans les eaux destinées à la consommation humaine avec un effet critique commun.

Une seconde étape consisterait à réaliser un autre tableau permettant de présenter l'ensemble des effets communs (critiques ou non) et les doses associées.

Si aucune VTR n'est définie pour un effet commun, il convient alors d'utiliser un niveau d'exposition basée sur un autre effet toxique au niveau de la cible identifiée («Target-organ Toxicity Dose TTD ») (US-EPA, 2000 ; ATSDR, 2004).

Cette seconde étape est cependant beaucoup plus conséquente à réaliser : elle nécessite une étude de la toxicité de chaque substance avec identification de l'ensemble des effets puis la détermination d'une TTD. La durée du travail et le niveau d'expertise requis sont beaucoup plus élevés.

Le travail réalisé par l'ATSDR (Cf. tableau 20) fournit une première information intéressante.

Un 2^{ème} critère est la disponibilité des données pour identifier les points communs entre les substances, les mécanismes d'action et caractériser les effets conjoints du mélange.

Concernant le 3^{ème} critère, les couples ont été classés sur la période 2003-2006 par ordre décroissant à partir du « Nombre d'habitants desservis par l'unité de distribution » et concernés par une non-conformité conjointe (Cf. 3.3.2.).

Cependant, ce critère, pratique d'utilisation, est insuffisant puisqu'un dépassement conjoint reste préoccupant dès lors qu'un habitant est susceptible d'être exposé.

Il serait intéressant de compléter la méthode de classement en utilisant d'autres critères :

- Ecart par rapport à la valeur réglementaire
- Fréquence et durée des non-conformités

⁹ D'après les données du contrôle sanitaire. Données Sise-Eaux-Direction Générale de la Santé

Hormis les données extraites de la base SISE-Eaux, le bureau de l'eau de la DGS a transmis à l'Afssa des informations concernant les dépassements conjoints observés en France. Les dépassements conjoints les plus fréquents identifiés par la DGS sur la période 1999-2002 concernent les couples : nitrates/pesticides et arsenic/fluor.

Il est à noter que le premier couple n'est pas le plus simple à étudier soit parce que la toxicité individuelle des substances est polémique (ex : nitrates) soit parce qu'elles appartiennent à des familles (ex pesticides).

Pour les couples identifiés comme prioritaires, la méthodologie suivante est proposée afin d'évaluer leur toxicité.

5.3. Proposition d'une méthodologie : choix, étapes et limites

Actuellement, il n'existe pas d'approche générale validée au niveau européen ou international. Suite à l'analyse de la pertinence des méthodologies, cette partie propose une approche adaptée pour aborder la problématique des mélanges dans les eaux destinées à la consommation humaine.

Les particularités et contraintes spécifiques de ce domaine sont les suivantes :

- stabilité du mélange dans le temps d'un point de vue composition chimique ;
- mélanges composés de substances réglementées par le code de la santé publique ;
- diversité qualitative et quantitative des mélanges à l'échelon national.

En première approche, la méthodologie se propose d'étudier les dangers associés aux couples de substances estimés prioritaires. Etant donné la diversité des mélanges, une caractérisation directe des mélanges à partir d'un site donné n'est pas envisagée. Il s'agit davantage de proposer un plan général de travail applicable à partir des données relatives aux composés du mélange.

La démarche vise à atteindre les deux objectifs suivants : (i) évaluer les effets des actions conjointes des substances sur leur absorption, distribution, métabolisme et élimination (ii) déterminer les conséquences de ces actions conjointes pour la santé

Le schéma de synthèse des étapes est proposé sur la figure 1 ci-après. Ces étapes s'inspirent des démarches proposées par ATSDR et US-EPA.

Etape 1 : Déterminer si des informations sont disponibles pour chacune des substances du mélange. Si oui, dérouler la démarche (étape 2). Sinon, l'évaluation doit rester qualitative.

Etape 2 : A partir de l'analyse des profils toxicologiques individuels, identifier les points communs concernant : l'origine et l'évolution de la substance dans le milieu, la cinétique et le métabolisme et les effets sur la santé : mécanismes d'action et/ou organes cibles.

Etape 3 : A partir de l'analyse des études d'actions conjointes, identifier le type de mécanismes et l'influence des actions sur la toxicité des substances.

Etape 4 : Evaluer la pertinence des données scientifiques en fonction des critères du paragraphe 2.2.4.2. (d) et en calculant l'indice WOE pour déterminer si les effets conjoints sont avec interactions ou non.

Si l'identification des effets conjoints est pertinente, aller à l'étape 5 pour choisir la méthode.

Si les données sont estimées non pertinentes, l'évaluation est à mener qualitativement par une synthèse des effets conjoints, accompagnée d'une discussion des incertitudes (étape 14).

Etape 5 : En se reportant aux définitions du tableau 1, identifier si les actions des substances sont sans interaction : semblables simples, indépendantes ou avec interaction.

Si les actions sont semblables simples, une hypothèse d'additivité des doses est à suivre (Cf. méthode 2.2.3.b.) et aller aux étapes 6 et 7.

Si les actions sont indépendantes, la méthode d'additivité des réponses est à employer (Cf. méthode 2.2.3.c.). Si il y a interaction entre les substances, utiliser la méthode Interactions-HI (Cf. méthode 2.2.3.d.) et aller aux étapes 6 et 10.

Etape 6 : Déterminer des scénarios d'exposition à partir des données de Sise-Eaux pour le calcul des indices de danger.

Si les actions conjointes sont sans interaction, aller à l'étape 7. Si des interactions sont identifiées, aller à l'étape 10.

Etape 7 : Calculer les quotients de danger par substance et par effet. S'il s'agit de l'effet critique de la substance, utiliser la VTR associée (étape 7a) sinon utiliser la méthode TTD (étape 7b).

Etape 8 : Si les quotients de danger (HQ) sont supérieurs à 0,1 pour les deux substances, le mélange présente un danger potentiel. Le calcul de l'indice de danger (HI) est pertinent.

Etape 9 : Si l'indice de danger (HI) est supérieur à 1, le mélange présente un danger potentiel par additivité.

Etant donné les simplifications et les approximations de la méthode HI, il faut s'interroger sur la fiabilité du résultat en résumant et discutant les incertitudes (étape 14).

Etape 10 : Calculer l'indice de danger HI_{ADD} afin d'envisager sa modification et tenir compte des interactions (étapes 11 à 13).

Etape 11 : Calculer le score combiné WOE par couples de substances à partir de la méthode du paragraphe 2.2.3.d.

Etape 12 : Si le calcul de l'indice conduit à un indice WOE positif alors les actions conjointes au sein du mélange sont plus qu'additives. Si le calcul de l'indice conduit à un indice WOE négatif alors ces actions sont moins qu'additives.

Etape 13 : Afin de tenir compte des interactions, l'indice de danger HI_{ADD} est ainsi modifié (Cf. 2.2.3.d. équation 7) et conduit à un HI_{INT} tenant compte des interactions.

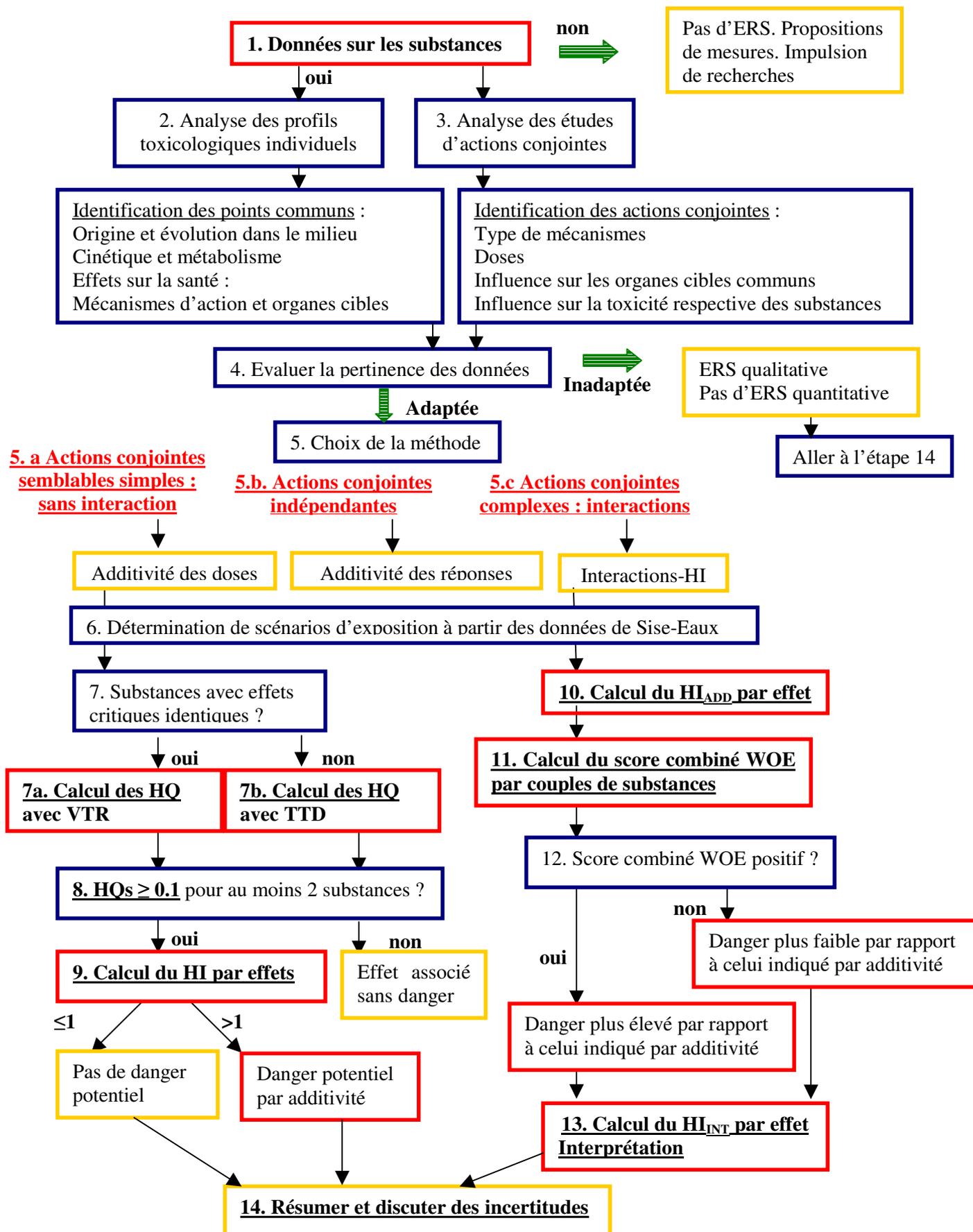
Etape 14 : L'analyse des résultats par discussion des incertitudes est indispensable pour évaluer la fiabilité des études disponibles. La définition des actions conjointes au sein du mélange est issue de l'interprétation de données de qualité souvent hétérogène. L'évaluation du « poids des preuves avancées » repose sur le calcul de l'indice WOE mais surtout sur l'appréciation de la qualité des études et de leur diversité.

Cependant l'étude du couple As/Sb a permis de mettre en avant les limites de l'exercice. Les principales limites identifiées de cette méthodologie sont les suivantes :

- type et qualité des données : la qualité de l'interprétation est dépendante et limitée par le type de données disponibles relatives d'une part, aux substances individuelles et d'autre part, aux actions conjointes.
- type de résultat : en l'état actuel des connaissances, la méthodologie proposée permet surtout d'évaluer le danger associé à un couple de substances et constitue ainsi un premier outil de réflexion pour tendre vers une évaluation rigoureuse des risques.
- unicité du résultat : il serait davantage pertinent d'avoir une gamme de résultats avec un intervalle de confiance associé. Pour y remédier, il serait intéressant de confronter différentes méthodologies.
- manque de validation : les méthodologies proposées n'ayant pas été éprouvées avec une variété suffisamment importante de mélanges, elles ne sont actuellement pas validées.

En pratique, il semble intéressant que l'Afssa réalise l'interprétation des études disponibles sur les couples d'intérêt identifiés à l'exemple du couple As/Sb afin de proposer ensuite une démarche adaptée au gestionnaire à mettre en œuvre sur site. Une analyse de la méthodologie et un retour sur son fonctionnement est à envisager en vue de la faire évoluer.

Figure 1 : proposition d'un schéma méthodologique : éléments d'évaluation des risques liés à un couple de substances dans les eaux destinées à la consommation humaine



5.4. Perspectives

Les perspectives de travail sont présentées sous deux angles : (i) perspectives de recherches concernant la problématique de l'action conjointe au sein des mélanges (ii) perspectives pour le groupe de travail de l'Afssa concernant la problématique des mélanges dans l'eau de boisson.

(i) Perspectives de recherche

Le colloque de l'AESA en février 2007 (Cf. annexe 10) et le congrès international de toxicologie de Montréal en juillet 2007 ont été l'occasion de faire un point sur de nombreuses interrogations. Les principaux éléments de discussion sont présentés.

- Il est indispensable d'acquérir des connaissances sur les actions conjointes au sein de mélanges de substances. Même pour un mélange composé de deux substances, les données sont souvent insuffisantes pour mener une évaluation. L'interprétation des études est ambiguë : l'évaluateur peut être face à des résultats peu nombreux et contradictoires (McCarty et Borgert, 2006). Pour y parvenir, la mise en place de méthodes d'analyses est à poursuivre afin de fournir des repères à l'évaluateur. En particulier, l'interprétation des études toxicologiques effectuées sur l'animal à fortes doses est à affiner pour comprendre leur signification en terme de risques sanitaires pour l'homme (Groten, 2004).

- Une perspective sous-jacente est le développement de méthodes de validation ainsi que la validation concrète des méthodes sur plusieurs mélanges.

Des méthodes d'analyse de l'incertitude sont également à développer en appui à l'interprétation des résultats. Un des points faibles des méthodes actuelles est la production d'un résultat unique d'évaluation. Ce point est à renforcer en proposant une gamme de résultats, représentative des incertitudes.

- La discussion sur la validité de l'hypothèse d'additivité des doses ou des réponses, approche basée sur des concepts est à poursuivre (Mumtaz, 2004 ; Donnelly, 2004 ; McCarty et Borgert, 2006).

Une revue de 437 articles relatifs aux interactions entre couples de substances chimiques, réalisée par l'US-EPA (1990) révèle qu'un nombre élevé d'études n'est pas parvenu à identifier et justifier une action combinée sans interaction par l'hypothèse d'additivité des doses. Quelques études ont validé cette hypothèse mais la qualité des protocoles est discutée (US-EPA, 1990). Les protocoles expérimentaux et les outils statistiques pour tester l'hypothèse d'additivité sont à améliorer. Les études ont été menées principalement pour des mélanges simples (Gennings *et al.*, 1997 ; Simmons *et al.*, 1995 ; Donnelly, 2004). Une des perspectives d'amélioration est la compréhension des mécanismes au sein de mélanges complexes pour des expositions *in vivo* et à faibles doses. Il s'agit alors de s'interroger sur les progrès analytiques nécessaires pour accompagner cette proposition.

- Les méthodologies actuelles ne permettent pas une évaluation fiable des mélanges de substances cancérigènes sans seuil : l'utilisation de l'additivité des réponses est fortement discutée. Cette méthode n'est actuellement pas considérée comme une méthode à utiliser systématiquement mais par défaut (US-EPA, 2000).

- Il serait souhaitable de rassembler les données sur les mélanges pour une utilisation commune des données. Une base de données (MIXTOX) a été mise en place par l'US-EPA (1990) et recense principalement des interactions entre substances non cancérigènes. Des informations sont également fournies pour les substances cancérigènes et sont rassemblées dans un système d'information nommé ISS (Integral Search System) (Woo *et al.*, 1994).

Ces données permettent de caractériser les interactions par couples de substances cancérigènes. L'ATSDR a également mis en place une base HazDat utilisée pour extraire des données sur des contaminants présents conjointement au niveau de sites (ATSDR, 2003). Des analyses de ces données collectées sur site sont effectuées afin de mettre en évidence les mélanges fréquemment rencontrés.

Ces bases constituent davantage un outil permettant une analyse qualitative des données et leur mise en place est à poursuivre. Accéder à ces données constituerait une perspective intéressante pour la suite du travail. Actuellement, la méthode du « weight-of-evidence » conduit l'évaluateur à mener l'interprétation d'un nombre important d'études pour déterminer l'existence d'interactions potentielles entre substances. L'utilisation de programmes informatiques associant par mots-clés les données sur les substances et interactions potentielles serait en ce sens un solide appui aux méthodes actuelles.

Les perspectives de travail portent principalement sur le besoin actuel d'études toxicologiques sur les actions conjointes des mélanges afin d'identifier les mélanges prioritaires préoccupants d'un point de vue sanitaire. Il s'agit également de réfléchir à la mise en place d'une classification des mécanismes d'action, utile à une interprétation cohérente des résultats.

(ii) Perspectives pour le groupe de travail de l'Afssa

Une perspective de travail est d'appliquer une méthodologie permettant d'identifier les mélanges de substances à étudier en priorité : traitement des données SISE-Eaux et tableau récapitulatif des effets critiques et VTR associées (Cf. 5.2).

Une fois l'identification des couples prioritaires réalisée, un travail important consiste à faire un état des lieux de la bibliographie disponible en terme de nombre de publications d'études d'actions conjointes et de qualité des données : diversité, type (homme, animal *in vivo* ou *in vitro*), protocoles et cohérence des résultats. Ce travail a été réalisé pour certaines substances par l'ATSDR (Cf. 5.1.2.). Une des limites au déroulement de la démarche est la possibilité de disposer de données suffisantes pour caractériser les actions conjointes entre deux substances et les conséquences sur la santé de ces effets. Cette étape est alors l'occasion de pointer les lacunes dans les connaissances.

L'utilisation de la méthodologie proposée peut être envisagée dans une perspective d'amélioration par confrontation avec différents couples. Cette démarche constitue une première approche pratique permettant d'évaluer le danger présenté par des couples de substances.

Les éléments suivants doivent être disponibles pour mener une évaluation : identification d'un effet sanitaire commun et études d'actions conjointes permettant de comparer chez l'homme ou l'animal *in vivo* l'action conjointe du couple aux effets individuels des substances.

Il est vivement recommandé de définir une méthode d'évaluation des risques plus représentative permettant une approche quantitative des interactions. Cette perspective étant un objectif majeur des recherches actuelles, une des perspectives du groupe de travail pourrait donc être d'assurer une veille, en particulier dans le domaine de l'évaluation des risques liés à des expositions à faibles doses et à long terme.

Etant donné l'étendue et l'actualité de la problématique, il semble pertinent de concentrer les efforts sur l'identification des couples prioritaires à l'échelon national et la caractérisation des dangers liés à ces substances dans les eaux de consommation.

Pour les couples prioritaires ainsi identifiés, il convient de s'intéresser à une caractérisation plus précise de l'exposition en identifiant le contexte local et en faisant part des résultats aux services déconcentrés concernés qui sont en charge du suivi des non-conformités.

Conclusion

Afin de garantir la sécurité sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine, le code de la santé publique fixe les limites et références de qualité pour plus de cinquante paramètres. Toutefois, ces valeurs ont été déterminées de manière individuelle sans tenir compte des interactions potentielles entre les différentes substances présentes.

Pour répondre aux interrogations en cas de dépassements des limites et références de qualité pour plusieurs substances, l'Afssa a engagé une réflexion sur la problématique de l'évaluation des risques sanitaires liés aux mélanges de substances.

Dans ce domaine, une des principales spécificités est l'existence potentielle d'actions conjointes susceptibles de modifier le danger associé à chacune des substances composant le mélange.

Les méthodologies d'évaluation des risques proposées actuellement sont basées sur des concepts différents selon la présence d'interactions ou non au sein du mélange. Le choix et l'utilisation pertinente d'une méthode dépendent fortement du type d'actions conjointes identifiées au préalable au sein du mélange.

La méthode de l'indice de danger supposant l'additivité des doses est simple d'utilisation et est ainsi fréquemment appliquée. Cependant, il est important de rester vigilant quant aux limites de son utilisation et de son interprétation en termes de risques sanitaires. En effet, cette méthode ne tient pas compte des interactions entre substances. Une sous-estimation ou surestimation des risques est à envisager.

La mise en pratique des démarches actuelles sur des exemples a mis en évidence plusieurs limites et n'a pas permis d'éprouver pleinement les méthodologies car les données scientifiques relatives aux actions conjointes se sont révélées insuffisantes. L'intérêt principal de cet exercice a été d'explicitier les étapes d'analyses et d'interprétations des résultats toxicologiques.

Ce type d'approches présente de fortes contraintes puisqu'il nécessite de réaliser des essais combinés de plusieurs doses et substances. De plus, pour mettre en évidence des actions conjointes au sein d'un mélange, l'analyse des données expérimentales conduit à identifier des limites associées à l'extrapolation des résultats de l'animal à l'homme, à la cohérence des protocoles et à l'interprétation des études.

Les données actuelles de la littérature scientifique permettent principalement d'identifier les dangers associés à des mélanges simples de deux substances et la mise en évidence d'effets pour des mélanges plus complexes demande la mise en place de nouvelles démarches.

Ainsi, une perspective importante de travail vise à la mise en place de protocoles et de méthodes d'interprétation afin de fournir des repères à l'évaluateur. En outre, l'identification seule des actions conjointes *in vivo* n'est pas suffisante et doit être accompagnée par la compréhension des mécanismes d'action sous-jacents aux effets identifiés.

Le développement et l'amélioration des modèles sont des perspectives actuelles de recherche en réponse à cette observation.

L'objet du mémoire était de proposer une démarche afin d'avancer sur la prise en compte des risques sanitaires liés aux mélanges dans le cadre de la gestion des eaux destinées à la consommation humaine. Cette approche présente les spécificités suivantes. Tout d'abord, l'étude se limite à des mélanges simples de couples de substances visées par le code de la santé publique et appartenant à des familles différentes. Ensuite, elle vise des couples de substances identifiées avec des quantités et des proportions susceptibles de varier. Ainsi des données relatives aux substances individuelles du mélange et non celles relatives à un mélange spécifique d'un site ont été utilisées.

La démarche proposée à terme dans le mémoire tend à déterminer les étapes préliminaires nécessaires pour mener une évaluation des risques liés à un couple donné. Une action à engager au préalable vise à prioriser les couples à étudier dans l'eau de boisson. Les critères de hiérarchisation doivent prendre en compte les données d'exposition des populations ainsi que celles disponibles sur les toxicités individuelle et conjointe des substances. Pour les couples d'intérêt, le choix d'une méthodologie s'effectue ensuite sur la base des effets conjoints identifiés.

En terme de gestion, les données disponibles pour caractériser le risque associé à des couples de substances ne sont pas d'une précision suffisante pour prendre en compte cet aspect dans la gestion des risques sanitaires.

Les éléments présentés mettent ainsi en évidence le besoin d'investigations supplémentaires en toxicologie, modélisation et épidémiologie.

La prochaine mission du groupe de travail de l'Afssa pourrait être d'établir conjointement avec la Direction Générale de la Santé la liste des couples de substances estimés prioritaires, de la transmettre aux services déconcentrés et de l'actualiser par une double veille : interprétation des études toxicologiques conjointes et analyse régulière des données de qualité des eaux à compter de l'année 2007.

L'intérêt de poursuivre les investigations est d'autant plus justifié par la mise en évidence de mélanges préoccupants à l'échelon national.

La gestion des risques liés à des dépassements de plusieurs substances pourra être menée en conséquence par les services déconcentrés en fonction des dangers identifiés par couples de substances en portant une attention particulière :

- aux fréquences et durées des dépassements des valeurs réglementaires individuelles pour les couples estimés prioritaires
- à la remontée régulière de ces informations vers la Direction Générale de la Santé pour transmission à l'Afssa.

Cette communication réciproque des informations assurera une coordination des actions utiles pour mener des investigations et préserver la santé des populations. La mise en place d'une démarche pertinente d'évaluation des risques s'effectuera avec la progression des connaissances, l'utilisation de compétences pluridisciplinaires et un travail en partenariat avec les gestionnaires du risque au service de la santé publique.

BIBLIOGRAPHIE

AESA (2007) Cumulative risk assessment of pesticides to human health : the way forward. Advanced draft. Summary report. EFSA scientific colloquium, 28-29 Novembre 2006, Parme, Italie, 1-23.

Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA). (2007) Evaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement des limites et références de qualité des eaux destinées à la consommation humaine. 1-252.

Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA). (Juin 2004) Evaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement de la limite de qualité du trichloroéthylène et du tétrachloroéthylène dans les eaux destinées à la consommation humaine. Avis de l'AFSSA.

Aposhian, H. V., Gurzau, E. S., Le, X. C., Gurzau, A., Healy, S. M., Lu, X., Ma, M., Yip, L., Zakharyan, R. A., Maiorino, R. M., Dart, R. C., Tircus, M. G., Gonzalez-Ramirez, D., Morgan, D. L., Avram, D. and Aposhian, M. M. (2000) Occurrence of monomethylarsonous acid in urine of humans exposed to inorganic arsenic. *Chem Res Toxicol*, 13, 693-7.

ATSDR (1992) Toxicological profile for antimony and compounds. Agency for toxic substances and disease registry - U.S. department of health and human services, 1-136.

ATSDR (1999) Toxicological profile for cadmium. Atlanta, GA : Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

ATSDR (2003) Hazardous substances database HazDat. Agency for toxic substances and disease registry Atlanta, GA.

ATSDR (2004) Guidance manual for the assessment of joint toxic action of chemical mixtures. 1-63.

ATSDR (Mai 2004) Interaction profile for Arsenic, Cadmium, Chromium and Lead. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR (Mai 2004) Interaction profile for Arsenic, Hydrazines, Jet fuels, Strontium-90 and Trichloroethylene. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR (Mai 2004) Interaction profile for Benzene, Toluene, Ethylbenzene and Xylenes. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR (Mai 2004) Interaction profile for Lead, Manganese, Zinc and Copper. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR (Mai 2004) Interaction profile for Atrazine, Deethylatrazine, Diazinon, Nitrate and Simazine. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR (2005) Draft toxicological profile for arsenic. Agency for toxic substances and disease registry - U.S. department of health and human services, 1-489.

Bailly, R., Lauwerys R., Buchet J.P., Mathieu P., Konings J. (1991) Experimental and human studies on antimony metabolism : their relevance for the biological monitoring of workers exposed to inorganic antimony. *British Journal of Industrial Medicine*, 48, 93-97.

Basinger, M. A. and Jones, M. M. (1981) Structural requirements for chelate antidotal efficacy in acute antimony(III) intoxication. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 32, 355-63.

Bertolero, F., Pozzi, G., Sabbioni, E. and Saffiotti, U. (1987) Cellular uptake and metabolic reduction of pentavalent to trivalent arsenic as determinants of cytotoxicity and morphological transformation. *Carcinogenesis*, 8, 803-8.

Bode, A. M. and Dong, Z. (2002) The paradox of arsenic: molecular mechanisms of cell transformation and chemotherapeutic effects. *Crit Rev Oncol Hematol*, 42, 5-24.

Bogdan, G. M., Sampayo-Reyes, A. and Aposhian, H. V. (1994) Arsenic binding proteins of mammalian systems: I. Isolation of three arsenite-binding proteins of rabbit liver. *Toxicology*, 93, 175-93.

Buchet, J. P. and Lauwerys, R. (1985) Study of inorganic arsenic methylation by rat liver in vitro: relevance for the interpretation of observations in man. *Arch Toxicol*, 57, 125-9.

Chulay, J. D., Fleckenstein, L. and Smith, D. H. (1988) Pharmacokinetics of antimony during treatment of visceral leishmaniasis with sodium stibogluconate or meglumine antimoniate. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 82, 69-72.

Circulaire DGS/SD7A/2006/110 du 8 mars 2006 relative à la gestion du risque sanitaire en cas de dépassement des exigences de qualité des eaux destinées à la consommation humaine pour les paramètres chlorure de vinyle, nickel, aluminium, sulfates, chlorures et fluor.

Circulaire DGS/SD7A/2004/602 du 15 décembre 2004 relative à la gestion du risque sanitaire en cas de dépassement des exigences de qualité des eaux destinées à la consommation humaine pour les paramètres antimoine, arsenic, fluor, plomb et sélénium en application des articles R. 1321-26 à 1321-36 du code de la santé publique.

Code de la santé publique. Articles R. 1321-26 à R. 1321-36. Décret n°2003-461 du 21 mai 2003 relatif à certaines dispositions réglementaires du code de la santé publique.

Crecelius, E. A. (1977) Changes in the chemical speciation of arsenic following ingestion by man. *Environ Health Perspect*, 19, 147-50.

Danish Veterinary and Food Administration (2003) Combined actions and interactions of chemicals in mixtures. ISBN : 87-91399-08-4, 1-158.

Diaz-Barriga, F., Llamas, E., Mejia, J. J., Carrizales, L., Santoyo, M. E., Vega-Vega, L. and Yanez, L. (1990) Arsenic-cadmium interaction in rats. *Toxicology*, 64, 191-203.

Dieter, M. P., Jameson, C. W., Elwell, M. R., Lodge, J. W., Hejtmancik, M., Grumbein, S. L., Ryan, M. and Peters, A. C. (1991) Comparative toxicity and tissue distribution of antimony potassium tartrate in rats and mice dosed by drinking water or intraperitoneal injection. *J Toxicol Environ Health*, 34, 51-82.

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

Donnelly, K. C. (2004) Toxicity assessment of complex mixtures remains a goal. *Environmental toxicology and pharmacology*, 18, 135-141.

Dybing, E., Doe, J., Groten, J., Kleiner, J., O'Brien, J., Renwick, A. G., Schlatter, J., Steinberg, P., Tritscher, A., Walker, R. and Younes, M. (2002) Hazard characterisation of chemicals in food and diet. dose response, mechanisms and extrapolation issues. *Food Chem Toxicol*, 40, 237-82.

EFSA colloquium. Cumulative risk assessment of pesticides to human health : the way forward. Summary report. Draft 070215. (2007) 1-22.

Frisbie, S. H., Ortega, R., Maynard, D. M. and Sarkar, B. (2002) The concentrations of arsenic and other toxic elements in Bangladesh's drinking water. *Environ Health Perspect*, 110, 1147-53.

Gebel, T. (1997b) Arsenic and antimony: comparative approach on mechanistic toxicology. *Chem Biol Interact*, 107, 131-44.

Gebel, T. (1998a) Suppression of arsenic-induced chromosome mutagenicity by antimony. *Mutat Res*, 412, 213-8.

Gebel, T. (2000) Confounding variables in the environmental toxicology of arsenic. *Toxicology*, 144, 155-62.

Gebel, T., Birkenkamp, P., Luthin, S. and Dunkelberg, H. (1998b) Arsenic(III), but not antimony(III), induces DNA-protein crosslinks. *Anticancer Res*, 18, 4253-7.

Gebel, T., Christensen, S. and Dunkelberg, H. (1997a) Comparative and environmental genotoxicity of antimony and arsenic. *Anticancer Res*, 17, 2603-7.

Gerber, G. B., Maes, J. and Eykens, B. (1982) Transfer of antimony and arsenic to the developing organism. *Arch Toxicol*, 49, 159-68.

Ghassemzadeh, F., H., M. and McLennan, G. (2006) Arsenic and antimony in drinking water in Khohsorkh area, northeast Iran, possible risks for the public health. *Journal of Applied Sciences*, 6(13), 2705-2714.

Groten, J. P., Heijne W.H.M., Stierum R.H., Freidig A.P., Feron V.J. (2004) Toxicology of chemical mixtures : a challenging quest along empirical sciences. *Environmental toxicology and pharmacology*, 18, 185-192.

Groth, D. H., Stettler, L. E., Burg, J. R., Busey, W. M., Grant, G. C. and Wong, L. (1986) Carcinogenic effects of antimony trioxide and antimony ore concentrate in rats. *J Toxicol Environ Health*, 18, 607-26.

Habeebu, S. S., Liu, J., Liu, Y. and Klaassen, C. D. (2000) Metallothionein-null mice are more sensitive than wild-type mice to liver injury induced by repeated exposure to cadmium. *Toxicol Sci*, 55, 223-32.

Hasgekar, N., Beck, J. P., Dunkelberg, H., Hirsch-Ernst, K. I. and Gebel, T. W. (2006) Influence of antimonite, selenite, and mercury on the toxicity of arsenite in primary rat hepatocytes. *Biol Trace Elem Res*, 111, 167-83.

INERIS (2006) Arsenic et ses dérivés inorganiques. INERIS-DRC-01-25590-00DF258, 1-78.

INSPQ (2006) Etude exploratoire d'approches de gestion de risque lors des dépassements des normes chimiques dans l'eau potable. Direction risques biologiques, environnementaux et occupationnels.

IRIS (2001) Arsenic, cadmium, chromium(VI) and lead. Integrated Risk Information System. US-EPA.

Krishnan, K., Haddad, S., Beliveau, M. and Tardif, R. (2002) Physiological modeling and extrapolation of pharmacokinetic interactions from binary to more complex chemical mixtures. *Environ Health Perspect*, 110 Suppl 6, 989-94.

Kuroda, K., Endo, G., Okamoto, A., Yoo, Y. S. and Horiguchi, S. (1991) Genotoxicity of beryllium, gallium and antimony in short-term assays. *Mutat Res*, 264, 163-70.

Lerda, D. (1994) Sister-chromatid exchange (SCE) among individuals chronically exposed to arsenic in drinking water. *Mutat Res*, 312, 111-20.

Lerman, S. A., Clarkson, T. W. and Gerson, R. J. (1983) Arsenic uptake and metabolism by liver cells is dependent on arsenic oxidation state. *Chem Biol Interact*, 45, 401-6.

Liu, J. and Klaassen, C. D. (1996) Absorption and distribution of cadmium in metallothionein-I transgenic mice. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 29, 294-300.

Mahaffey, K. R. and Capar, S. G. (1981) Concurrent exposure to lead, cadmium and arsenic : effects on toxicity and tissue metal concentrations in the rat. *J. Lab. Clin. Med.*, 98, 463-481.

McCarty, K. M., Senn, D. B., Kile, M. L., Quamruzzaman, Q., Rahman, M., Mahiuddin, G. and Christiani, D. C. (2004) Antimony: an unlikely confounder in the relationship between well water arsenic and health outcomes in Bangladesh. *Environ Health Perspect*, 112, 809-11.

McCarty, L. S. and Borgert, C. J. (2006) Review of the toxicity of chemical mixtures: Theory, policy, and regulatory practice. *Regul Toxicol Pharmacol*, 45, 119-43.

Mumtaz, M. (1996) Exercises in the use of weight-of-evidence approach for chemical mixture interactions. *Journal of Clean Technology, Environmental Toxicology and Occupational Medicine*, 5, 339-345.

- Mumtaz, M. M., Poirier, K. A. and J.T., C. (1997) Risk assessment for chemical mixtures : fine-tuning the hazard index approach. *J. Clean Technol., Environ. Toxicol. Occup. Med.*, 6(2), 189-204.
- Mumtaz, M. M., De Rosa C.T., Cibulas W., Falk H. (2004) Seeking solutions to chemical mixtures challenges in public health. *Environmental toxicology and pharmacology*, 18, 55-63.
- NTP (1993) A chemical mixture of 25 groundwater contaminants administered in drinking water to F344/N rats and B6C3F1 mice. NIH publication 93-3384, 35.
- OMS (2003a) Antimony in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality, WHO/SDE/WSH/03.04/74, 1-14.
- OMS (2003b) Arsenic in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality, WHO/SDE/WSH/03.04/75, 1-11.
- Petrick, J. S., Ayala-Fierro, F., Cullen, W. R., Carter, D. E. and Vasken Aposhian, H. (2000) Monomethylarsonous acid (MMA(III)) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol*, 163, 203-7.
- Plackett, R. L. and Hewlett, P. S. (1952) Quantal responses to mixtures of poisons. *J. Royal Stat. Soc. B.*, 14, 141-163.
- Pomroy, C., Charbonneau, S. M., McCullough, R. S. and Tam, G. K. (1980) Human retention studies with 74As. *Toxicol Appl Pharmacol*, 53, 550-6.
- Rees, P. H., Keating, M. I., Kager, P. A. and Hockmeyer, W. T. (1980) Renal clearance of pentavalent antimony (sodium stibogluconate). *Lancet*, 2, 226-9.
- Rossmann, T. G. (1981) Enhancement of UV-mutagenesis by low concentrations of arsenite in *E. coli*. *Mutat Res*, 91, 207-11.
- Santé Canada (1999) Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique - L'arsenic. Bureau de la qualité de l'eau et de la Santé, Direction générale de la santé environnementale et de la santé des consommateurs, 1-10.
- Santé Canada (2006) Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : document technique - L'arsenic. Bureau de la qualité de l'eau et de la Santé, Direction générale de la santé environnementale et de la santé des consommateurs, 1-37.
- Schmolke, G., Elsenhans, B., Ehtechami, C. and Forth, W. (1992) Arsenic-copper interaction in the kidney of the rat. *Hum Exp Toxicol*, 11, 315-21.
- Seed, J., Brown, R. P., Olin, S. S. and J.A., F. (1995) Chemical mixtures : current risk assessment methodologies and future directions. *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, 22, 76-94.
- Sexton, K. and Hattis, D. (2007) Assessing cumulative health risks from exposure to environmental mixtures. Three fundamental questions. *Environmental health perspectives*, 115 (5), 825-832.

Simmons, J. E., Yang, R. S. and Berman, E. (1995) Evaluation of the nephrotoxicity of complex mixtures containing organics and metals: advantages and disadvantages of the use of real-world complex mixtures. *Environ Health Perspect*, 103 Suppl 1, 67-71.

Svendsgaard, D. J. and Hertzberg, R. C. (1994) Statistical methods for the toxicological evaluation of the additivity assumption as used in EPA chemical mixture risk assessment guidelines. In *Toxicology of chemical mixtures, case studies, mechanisms, and novel approaches*. Yang, RSH, ed. New York : Academic Press, 599-642.

Teuschler, L. K. and Hertzberg, R. C. (1995) Current and future risk assessment guidelines, policy, and methods development for chemical mixtures. *Toxicology*, 105, 137-44.

Thomas, R. S., Yang, R. S., Morgan, D. G., Moorman, M. P., Kermani, H. R., Sloane, R. A., O'Connor, R. W., Adkins, B., Jr., Gargas, M. L. and Andersen, M. E. (1996) PBPK modeling/Monte Carlo simulation of methylene chloride kinetic changes in mice in relation to age and acute, subchronic, and chronic inhalation exposure. *Environ Health Perspect*, 104, 858-65.

Tirmenstein, M. A., Plews, P. I., Walker, C. V., Woolery, M. D., Wey, H. E. and Toraason, M. A. (1995) Antimony-induced oxidative stress and toxicity in cultured cardiac myocytes. *Toxicol Appl Pharmacol*, 130, 41-7.

US-Environmental Protection Agency (US-EPA). Juin 2003. The feasibility of performing cumulative risk assessments for mixtures of disinfection by-products in drinking water. National center for environmental assessment, Office of research and development, Cincinnati OH 45268.

US-Environmental Protection Agency (US-EPA). Août 2000. Supplementary guidance for conducting health risk assessment of chemical mixtures. Risk assessment forum, Washington DC 20460. 1-143.

US-Environmental Protection Agency (US-EPA). Avril 1999. Guidance for conducting health risk assessment of chemical mixtures. Risk assessment forum of technical panel, Washington DC 20460.

US-Environmental Protection Agency (US-EPA). Septembre 1986. Guidelines for the health risk assessment of chemical mixtures. Risk assessment forum, Washington DC 20460.

Vahter, M. (1994) What are the chemical forms of arsenic in urine and what can they tell us about exposure ? *Clin. Chim.*, 40, 679-680.

Vahter, M., Couch, R., Nermell, B. and Nilsson, R. (1995) Lack of methylation of inorganic arsenic in the chimpanzee. *Toxicol Appl Pharmacol*, 133, 262-8.

Vahter, M. and Marafante, E. (1983) Intracellular interaction and metabolic fate of arsenite and arsenate in mice and rabbits. *Chem Biol Interact*, 47, 29-44.

Vahter, M. and Marafante, E. (1985) Reduction and binding of arsenate in marmoset monkeys. *Arch Toxicol*, 57, 119-24.

Van Bruwaene, R., Gerber, G. B., Kirchmann, R. and Colard, J. (1982) Metabolism of antimony-124 in lactating dairy cows. *Health Phys*, 43, 733-8.

Winship, K. A. (1987) Toxicity of antimony and its compounds. *Adverse Drug React Acute Poisoning Rev*, 6, 67-90.

Woo, Y. T., DiCarlo, F. J., Arcos, J. C., Argus, M. F., Polansky, G. and DuBose, J. (1994) Assessment of carcinogenic hazard of chemical mixtures through analysis of binary chemical interaction data. *Environmental Health Perspectives*, 102, 113-118.

Yamanaka, K. and Okada, S. (1994) Induction of lung-specific DNA damage by metabolically methylated arsenics via the production of free radicals. *Environ Health Perspect*, 102 Suppl 3, 37-40.

Yamanaka, K., Tezuka, M., Kato, K., Hasegawa, A. and Okada, S. (1993) Crosslink formation between DNA and nuclear proteins by in vivo and in vitro exposure of cells to dimethylarsinic acid. *Biochem Biophys Res Commun*, 191, 1184-91.

Sites internet

Site de l'ATSDR sur les "mixtures" (consulté de mai à juillet 2007)
<http://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/index.html>

Site du Minnesota Department of Health, 2001 (consulté en juin 2007)
<http://health.state.mn.us/divs/eh/groundwater/hrlmix.html>

Recommandations de l'OMS (consulté en mai 2007)
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/guidelines/

Site de Santé Canada sur les effets cumulatifs des substances toxiques (2004) (consulté en juillet 2007)
http://www.hc-sc.gc.ca/sr-sr/finance/tsri-irst/proj/cumul-eff/index_f.html

Site de l'US EPA sur les "mixtures" (consulté de mai à juillet 2007)
<http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=159132>

Normes et recommandations de l'US EPA (consulté en juin 2007)
<http://www.epa.gov/waterscience/criteria/drinking/>

GLOSSAIRE

Clastogène : se dit d'un agent physique ou chimique susceptible de rompre un chromosome en plusieurs segments

Cytotoxicité : propriété d'une substance provoquant des altérations cellulaires qui entravent le fonctionnement et la reproduction des cellules et conduisent à leur destruction

Equivalence toxique : ou « Toxicity equivalent TEQ ». contribution d'une substance spécifique à la toxicité du mélange auquel elle appartient

Génotoxicité : propriété d'une substance à perturber ou interrompre les fonctions génétiques d'un organisme ou d'une cellule

Quotient de danger : ou « Hazard quotient HQ ». ratio du niveau d'exposition et du niveau maximal acceptable d'une substance

Indice de danger d'un mélange : ou « Hazard index HI ». somme des quotients de danger des substances du mélange

Mélange : association de plusieurs substances

Mélange semblable : mélange tel que les substances qui le composent ont des propriétés chimiques similaires, sont présentes dans les mêmes proportions et sont supposées avoir des voies et des effets sanitaires semblables

Méthylation : substitution dans une molécule d'un radical méthyle à un atome d'hydrogène

Mutagenicité : aptitude d'un agent biologique, physique ou chimique à provoquer des mutations au sein du matériel génétique des cellules

Micronoyau : fragment séparé du noyau principal contenant des morceaux de chromosomes ou des chromosomes entiers

Profil d'interaction : ensemble des caractéristiques d'un mélange déterminé à partir de l'évaluation des données toxicologiques du mélange et celles relatives aux actions conjointes des substances qui le composent

Test de l'échange de chromatide-sœurs : mesure *in vitro* des dommages chromosomiques associée à des échanges de fragments de chromosomes dans des cellules exposées à des agents génotoxiques.

Test du micronoyau : mesure *in vitro* des dommages chromosomiques associée à la formation de micronucléus dans des cellules exposées à des agents génotoxiques. Il est supposé une corrélation positive entre fréquence de micronoyaux et génotoxicité.

Unité de distribution : ensemble de tuyaux connexes de distribution dans lesquels la qualité de l'eau est réputée homogène, faisant partie d'une même unité de gestion et d'exploitation donc géré par un seul exploitant et appartenant à un seul et même propriétaire

Valeur toxicologique de référence : pour les substances à seuil : estimation de la quantité de substance à laquelle un individu peut être théoriquement exposé pendant une durée déterminée sans qu'apparaissent des effets nuisibles sur sa santé (RfD pour US-EPA, MRL pour ATSDR, DJT pour l'OMS) – pour les substances sans seuil : valeur correspondant à la probabilité supplémentaire, par rapport à un sujet non exposé, qu'un individu développe un cancer s'il est exposé pendant sa vie entière à une unité de dose de la substance

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableau 1 : synthèse des actions conjointes des substances d'un mélange	7
Tableau 2 : critères d'interprétation de l'indice Hazard index HI (D'après ATSDR, 2004).....	10
Tableau 3 : méthode BINWOE : critères de l'évaluation des interactions au sein du mélange (adapté à partir de ATSDR, 2004 et Mumtaz et al., 1992 et 1994).....	14
Tableau 4 : récapitulatif des effets individuels de l'arsenic et du cadmium (ATSDR, 2004).....	19
Tableau 5 : données relatives à l'influence de l'arsenic sur la toxicité du cadmium : exemple de l'effet rénal (ATSDR, 2004)	20
Tableau 6 : données relatives à l'influence du cadmium sur la toxicité de l'arsenic : exemple de l'effet rénal (ATSDR, 2004)	20
Tableau 7 : synthèse des effets et BINWOE du couple As/Cd	22
Tableau 8 : choix des méthodes à partir des actions conjointes des substances d'un mélange	24
Tableau 9 : paramètres étudiés et limites de qualité.....	26
Tableau 10 : nombre et pourcentage d'UDI pour lesquelles il y a analyses, détection et dépassement des paramètres (Sise-Eaux, DGS-DRASS-DDASS, 2003-2006)	28
Tableau 11 : nombre d'UDI et détection conjointe des paramètres	28
Tableau 12 : nombre d'UDI et détection/dépassement conjoints des paramètres.....	29
Tableau 13 : nombre d'UDI et dépassement conjoint des paramètres	29
Tableau 14 : nombre d'habitants et dépassement conjoint des paramètres.....	30
Tableau 15 : caractéristiques des dépassement conjoints en As/Sb	31
Tableau 16 : comparaison de l'arsenic et de l'antimoine	33
Tableau 17 : synthèse des effets toxiques de l'arsenic et l'antimoine.....	36
Tableau 18 : génotoxicité et cancérogénicité de l'antimoine et l'arsenic.....	37
Tableau 19 : effets génotoxiques individuels et conjoints de l'arsenic et l'antimoine.....	38
Tableau 20 : couples de substances réglementées par le code de la santé publique et étudiées par l'ATSDR (2004).....	43
Figure 1 : proposition d'un schéma méthodologique : éléments d'évaluation des risques liés à un couple de substances dans les eaux destinées à la consommation humaine.....	47

ANNEXES

Annexe 1 : liste des profils d'interaction (ATSDR, 2004)

Annexe 2 : méthode Interactions-HI modifiée (Version US-EPA, 2000)

Annexe 3 : étapes d'une évaluation des risques liés à un mélange (US-EPA, 2000)

Annexe 4 : étapes d'une évaluation des risques liés à un mélange (ATSDR, 2004)

Annexe 4a : étapes d'une évaluation des risques liés à un mélange : effets à seuil

Annexe 4b : étapes d'une évaluation des risques liés à un mélange : effets sans seuil

Annexe 5 : fiches méthodologiques (d'après US-EPA, 2000)

Annexe 6 : éléments d'évaluation de la qualité des données

Annexe 7 : caractéristiques des dépassement en As ou Sb avec détection conjointe en As et Sb

Annexe 8 : profils toxicologiques individuels de l'arsenic et de l'antimoine

Annexe 9 : moteurs de recherche, mots-clés et nombre de publications

Annexe 10 : thèmes de recherche (d'après AESA, 2007)

Annexe 1 : listes des profils d'interaction (ATSDR)

- [Arsenic, Cadmium, Chromium, Lead](#)
- [Benzene, Toluene, Ethylbenzene, Xylene](#)
- [Lead, Manganese, Zinc, Copper](#)
- [Persistent chemicals found in breast milk](#)
- [Persistent chemicals found in fish](#)
- [1,1,1-TCE, 1,1-DCE, TCE, PERC](#)
- [Cesium, Cobalt, Polychlorinated Biphenyls, Strontium, and Trichloroethylene](#)
- [Arsenic, Hydrazines, Jet Fuels, Strontium-90, and Trichloroethylene](#)
- [Cyanide, Fluoride, Nitrate, and Uranium](#)
- [Atrazine, Deethylatrazine, Diazinon, Nitrate, and Simazine](#)
- [Chlorpyrifos, Lead, Mercury, and Methylmercury](#)

Lien internet (consulté de mai à août 2007)

<http://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles>

Annexe 2 : méthode Interactions-HI modifiée (Version US-EPA, 2000)

L'approche Interactions-HI conduit à modifier chaque HQ dans la formule HI : pour la $i^{\text{ème}}$ substance, les interactions possibles avec toutes les autres substances sont prises en compte par somme sur k pour tout indice différent de i :

Expression de l'indice de danger avec interactions (Hazard Index HI_{INT})

$$HI_{INT} = \text{Somme} (HQ_i * \text{Somme} (f_{ij} M_{ij}^{B_{ij} \theta_{ij}}))$$

avec :

HI_{INT} : HI modifié par les données d'interactions par couple de substances

HQ_i : quotient de danger pour la substance i (sans unité : dose ingérée/j sur la dose de référence RfD)

M_{ij} : ampleur de l'interaction : influence de la substance j sur i pour une dose seuil

f_{ij} : contribution de la substance j par rapport aux autres substances susceptibles d'interagir avec la substance i

B_{ij} : coefficient traduisant la force de l'indication de l'influence de j sur i

θ_{ij} : degré mesurant l'écart par rapport au cas où les substances i et j sont présentes en quantités égales

Classification et facteurs de pondération relatifs aux interactions :

Catégorie	Description	Direction	
		Plus qu'additive	Moins qu'additive
(I)	Influence des interactions sur les effets sanitaires non démontrée Direction de l'interaction explicite : > 0 (synergisme, potentialisation), <0 (antagonisme, inhibition)	1	-1
(II)	Direction de l'interaction démontrée <i>in vivo</i> et pertinence d'un effet sanitaire chez l'homme	0.75	-0.5
(III)	Direction potentielle de l'interaction mais interaction et pertinence faible d'un effet sanitaire chez l'homme	0.5	0
(IV)	Les données disponibles: - ne permettent pas de déterminer une direction d'interaction - ne permettent pas de déterminer l'existence d'interaction ou - sont adaptées pour conclure à l'absence d'interactions en conséquence : - hypothèse d'additivité démontrée ou acceptée par défaut	0	0

Signification des termes

B_{ij} : ce coefficient traduit la force de l'indication de l'influence de j sur i et la pertinence de cette influence d'un point de vue sanitaire. Une valeur positive indique une interaction synergique et une valeur négative indique une interaction antagoniste.

M_{ij} : ce terme représente l'effet d'interaction maximum d'une substance j sur une substance i. Quand les critères du WOE suggèrent une interaction mais que l'ampleur de cette interaction ne peut être quantifiée, une valeur par défaut de 5 est donnée à M_{ij} .

f_{ij} : ce terme représente la contribution de la substance j par rapport aux autres substances susceptibles d'interagir avec la substance i et s'exprime par la formule suivante :

$$f_{j,i} = \frac{HQ_j}{(HI_{ADD} - HQ_i)} \quad HI_{ADD} : \text{indice de risque (par hypothèse d'additivité)}$$

θ_{ij} : s'il y a égalité entre les quotients de risques, $HQ_i = HQ_j$ et le terme θ_{ij} approche de l'unité.

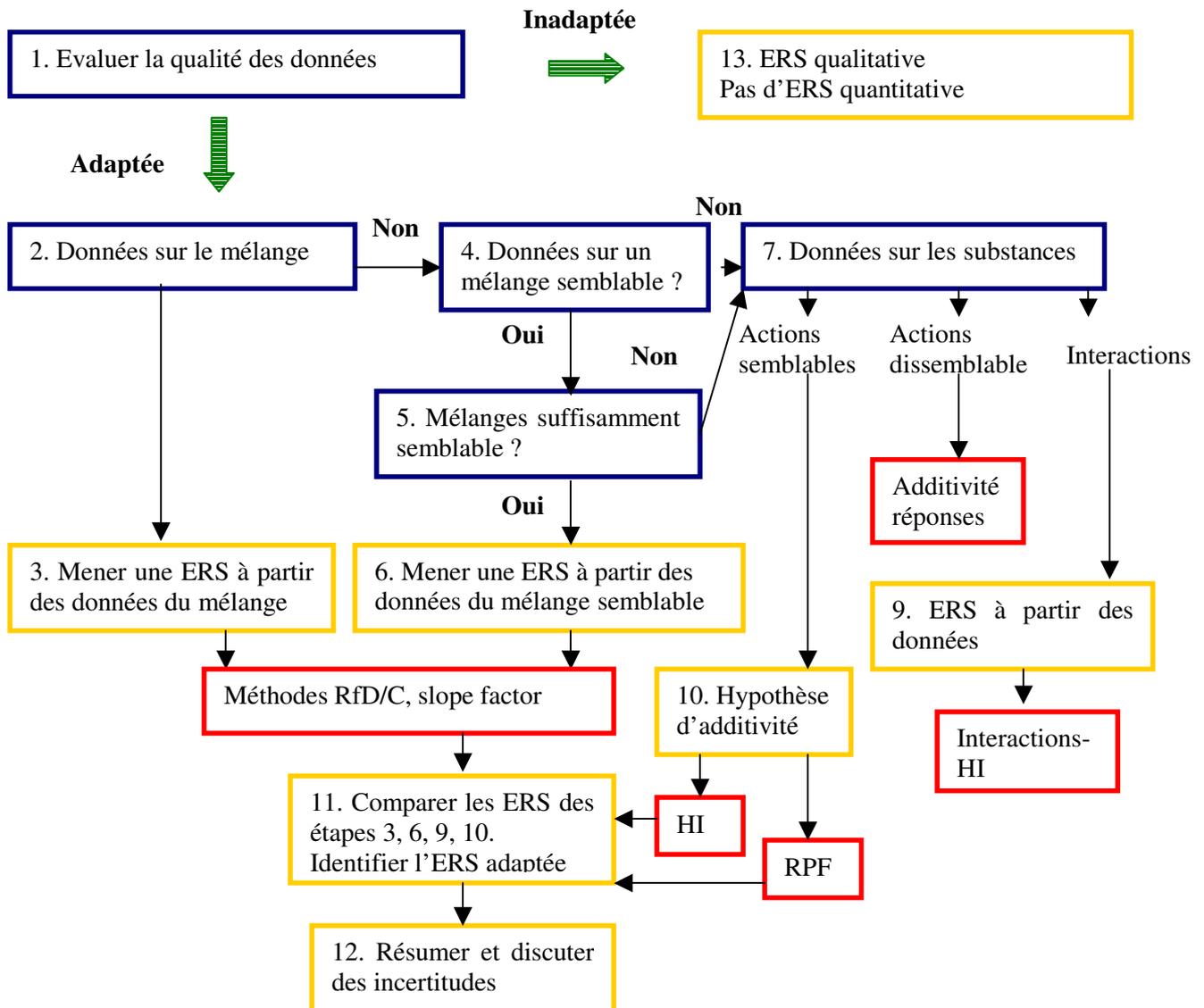
$$\theta_{i,j} = \frac{(HQ_i \cdot HQ_j)^{0,5}}{(HQ_i + HQ_j)^{0,5}}$$

Annexe 3 : étapes d'une évaluation des risques liés à un mélange (US-EPA, 2000)

- Schéma de synthèse des étapes
- Description des étapes

Schéma de synthèse des étapes (d'après US-EPA, 2000)

Les méthodologies d'évaluation (Méthode RfD/C, slope factor, HI, RPF, Interactions-HI) sont présentées sous forme de fiches synthétiques en annexe 5.



Description des étapes (d'après US-EPA, 2000)

Etape 1 : Evaluer la qualité des données relatives aux interactions, effets sanitaires et à l'exposition
Si les données sont pertinentes, poursuivre la démarche à l'étape 2.

Sinon, ne pas mener d'évaluation des risques et le justifier.

Etape 2 : Déterminer si des informations directes relatives au mélange d'étude sont utilisables

Si oui, mener l'évaluation des risques (étape 3).

Sinon, déterminer si des informations relatives à un mélange semblable sont disponibles (étape 4)

Etape 3 : Mener l'évaluation des risques sur le mélange

L'évaluation est à réaliser à partir des effets sanitaires identifiés pour le mélange. La démarche est ainsi identique à celle menée pour une substance.

Synthétiser ensuite les données relatives aux effets sanitaires et à l'exposition (étape 7).

Comparer les approches possibles (étape 12).

Etape 4 : Déterminer si des informations indirectes relatives à un mélange semblable sont utilisables

Si oui, évaluer la pertinence des points communs identifiés entre mélanges étudié et semblable (étape 5).

Si non, synthétiser les données relatives aux effets sanitaires et à l'exposition du mélange étudié (étape 7).

Etape 5 : évaluer la pertinence des points communs identifiés entre mélanges étudié et semblable

Cette analyse doit porter principalement sur les points suivants : propriétés, proportions et effets toxicologiques individuels des substances.

Si les points communs avec le mélange semblable sont suffisants, mener l'évaluation des risques à partir du mélange semblable (étape 6).

Sinon, synthétiser les données relatives aux effets sanitaires et à l'exposition du mélange étudié (étape 7).

Etape 6 : Mener l'évaluation des risques sur le mélange semblable

L'évaluation est à réaliser à partir des effets sanitaires identifiés pour le mélange. La démarche est ainsi identique à celle menée pour une substance.

Synthétiser ensuite les données relatives aux effets sanitaires et à l'exposition (étape 7).

Comparer les approches possibles (étape 12).

Etape 7 : synthétiser les données relatives aux effets sanitaires et à l'exposition du mélange étudié

Sinon, analyser qualitativement les informations disponibles et aller à l'étape 11.

Etape 8 : utiliser l'hypothèse d'interactions

Pour les substances pour lesquelles les données sont pertinentes, des modèles peuvent être mettre en œuvre afin de représenter les effets en tenant compte des interactions.

Pour les autres substances, l'hypothèse d'additivité est à utiliser

Etape 9 : Mener une évaluation des risques basée sur une hypothèse d'additivité pour tous les composés du mélange

Etape 10 : Comparer les approches d'évaluation de risques

Identifier et justifier la méthode la plus adaptée et quantifier si possible les incertitudes.

Etape 11 : Mener une critique de l'évaluation des risques réalisée

Résumer les apports des approches qualitatives et quantitatives en mettant particulièrement en évidence les hypothèses et incertitudes

Evaluer la qualité de l'évaluation des risques menée à partir des critères relatifs aux interactions, effets sanitaires et exposition (à compléter avec la table 2)

Etape 12 : les données scientifiques actuelles ne permettent pas de mener une évaluation des risques pertinente

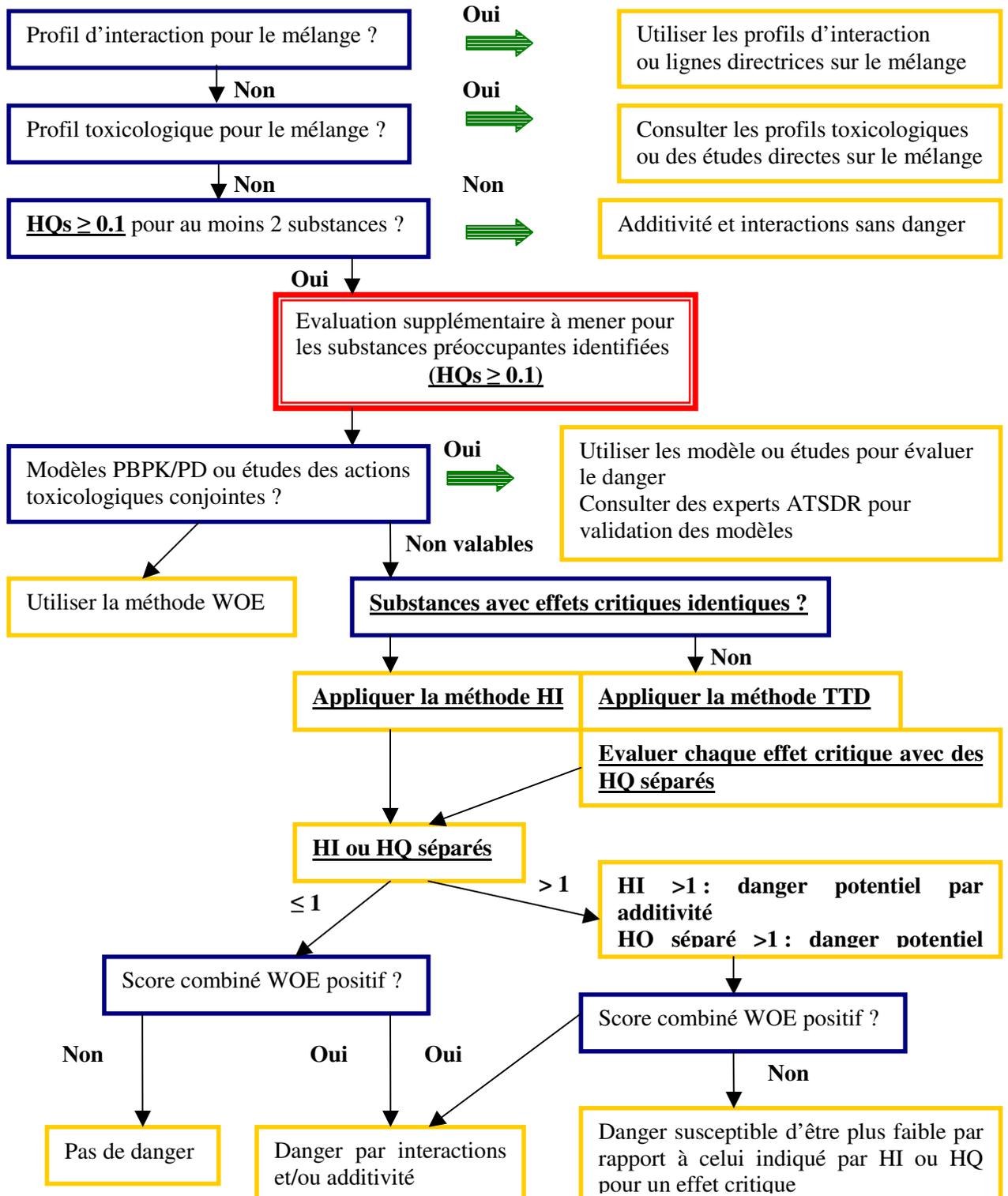
Mener une analyse qualitative des dangers potentiels identifiés par les données existantes en émettant des réserves associées à leur qualité discutable et mettre en évidence les besoins d'information supplémentaires

Annexe 4 : étapes d'une évaluation des risques liés à un mélange (ATSDR, 2004)

Annexe 4a : étapes d'une évaluation des risques liés à un mélange : effets à seuil (ATSDR, 2004)

- Schéma de synthèse des étapes
- Description des étapes

Schéma de synthèse des étapes, effets à seuil (d'après ATSDR, 2004)



Description des étapes, effets à seuil (d'après ATSDR, 2004)

Etape 1 : Utiliser les profils d'interactions relatifs au mélange

Des profils d'interaction sont réalisés par ATSDR pour plusieurs mélanges. Ces études donnent les éléments d'évaluation de risques par différentes méthodes : HI, TTD, WOE, PBPK/PD, TEF etc. Les profils disponibles sur le site de l'ATSDR sont fournis pour groupes de 4 substances. L'avantage de la démarche est de dérouler la méthodologie pour chacun des couples de substances. Cette approche présente l'intérêt de proposer des recommandations hiérarchisées en fonction de la spécificité des sites et des données disponibles.

Etape 2 : Sinon, utiliser les profils toxicologiques relatifs au mélange

La différence entre profil d'interactions et toxicologiques réside dans le type de mélanges étudiés. En effet, les profils toxicologiques proposés concernent principalement des mélanges de deux types : des mélanges de produits chimiques industriels de type PCBs (ATSDR, 2000) et pesticides (ATSDR, 1996) et des mélanges de sous-produits de procédés de type combustion de carburants ou désinfection de l'eau potable.

L'évaluation des risques s'effectue à partir de données directes relatives au mélange (PCBs, pesticides), à partir des niveaux minimums de risques individuels (MRLs) ou sur la base de l'additivité des doses des substances.

Etape 3 : Si aucun document de référence n'existe pour le mélange d'étude, sélectionner les composés pertinents en terme de risque sanitaire

Si les données relatives au mélange sont insuffisantes, l'utilisation des données individuelles pour chaque substance est nécessaire. A cette étape, il est particulièrement important d'identifier les substances pertinentes au sein du mélange. Les critères généraux de choix sont les suivants :

- identification d'un danger pour la santé
- niveaux d'exposition supérieurs aux valeurs de la réglementation
- interactions ou additivité potentielles avec d'autres composés

Pour évaluer le troisième critère, la règle suivante est énoncée :

- si $HQ < 0,1$: pas de danger par interactions
- et si le nombre de substances du mélange est peu élevé (< 10) : pas de danger par additivité des effets

Il est important de noter que la valeur repère de 0,1 correspond à un quotient de danger pour des substances d'un mélange contenant moins de 10 substances.

Si l'ensemble des composés ont un $HQ < 0,1$, les phénomènes d'additivité et d'interactions au sein du mélange ne constituent pas une préoccupation sanitaire.

Si un dépassement est observé pour un seul élément, l'étude ne correspond plus à une problématique de mélanges.

Il peut alors être utile de se référer au guide de l'ATSDR relatif aux effets individuels des substances (ATSDR, 1992).

Si un dépassement est observé pour deux éléments ou plus, une évaluation des dangers par les étapes 4 à 7 est nécessaire.

Cependant, des ajustements de la règle énoncée sont possibles dans les cas suivants.

Si le mélange est constitué de plus de 10 substances ayant une même action ou si plusieurs substances ont un HQ inférieur mais proche de 0,1 alors la valeur de référence du HQ peut être revue à la baisse (voir exemple : eaux souterraines et 12 substances).

Etape 4 : Evaluer et utiliser les modèles PBPK/PD ou les études expérimentales d'action toxique conjointe

Si des modèles ont été élaborés pour le mélange d'étude, il est indispensable d'évaluer leur pertinence au regard d'une part, de durée et voie d'exposition réalistes et d'autre part, des effets sanitaires non cancérogènes associés aux substances.

Il est important de vérifier si les modèles sont représentatifs des mécanismes d'action. En particulier, les effets modélisés doivent inclure l'effet critique d'une substance ainsi que les effets communs à 2 ou plusieurs substances.

Des bases de données de type Toxline peuvent fournir des informations concernant des modèles PBPK/PD pour les mélanges.

Dans le cas de modèles disponibles non validés pour le groupe de substances du mélange, l'étape 4 n'est alors pas à suivre.

En effet, il est intéressant de remarquer que l'utilisation de modèles peut être faite à l'étape 7 de la démarche lors de l'application de la méthode WOE.

Étape 5 : Déterminer si les substances du mélange ont le même effet critique ou non

Cette étape permet de poursuivre la démarche selon deux voies différentes :

- si des effets ou des organes cibles communs sont identifiés, utiliser la méthode de l'indice de danger (HI) à l'étape 6a.
- Si les effets et organes cibles sont variés, utiliser la méthode de la dose de toxicité au niveau de l'organe cible (TTD) à l'étape 6b.

Étape 6a : Appliquer la méthode de l'indice de danger (« Hazard Index HI ») aux substances ayant le *même effet critique*

Si la somme des quotients de danger est supérieure à 1, le mélange est susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel.

Cependant des investigations supplémentaires sont nécessaires puisque les interactions ne sont pas prises en compte dans cette méthode.

Cette méthode tend ainsi à sous-estimer le risque évalué en cas d'interactions plus qu'additives ou à le surestimer en cas d'interactions moins qu'additives.

Ainsi, que l'indice de danger soit inférieur ou supérieur à 1, il est indispensable d'aller à l'étape 7.

Étape 6b : Appliquer la méthode de la dose de toxicité au niveau de l'organe cible (« Target-organ Toxicity Dose TTD ») aux substances ayant un *effet critique différent*

La démarche consiste à calculer des indices de danger pour chaque effet d'intérêt sanitaire identifié et commun à au moins deux substances. Si l'indice de danger est associé à un effet qui est utilisé pour construire les valeurs guides alors celle-ci doivent être utilisées (MRLs, RfD ou RfC). Sinon, l'indice TTD est utilisé comme valeur de référence.

Si l'indice de danger est supérieur à 1 pour un des effets sanitaires, le mélange est susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel. Cependant des investigations supplémentaires sont nécessaires (étape 7) puisque les interactions ne sont pas prises en compte dans cette méthode.

De même, si l'ensemble des indices de danger est inférieur ou égal à 1, l'étape 7 doit être menée afin de prendre en compte les interactions potentielles au sein du mélange.

Étape 7 : Appliquer la méthode WOE (« Weight-of-evidence »)

Cette méthode permet de prévoir l'effet des actions conjointes lorsque les données ne sont pas suffisantes pour mener une évaluation quantitative.

L'indice BINWOE est ainsi identifié (Cf. 2.3.3.2.) afin de déterminer si le danger sera supérieur ou non à celui obtenu par la méthode de l'indice de danger HI.

Des conditions particulières sont requises pour utiliser cette méthode :

- voie et durée d'exposition identifiées
- spécificité de l'effet sanitaire ou de l'organe cible

Pour interpréter les résultats, les règles suivantes sont énoncées :

- si l'indice est positif et significativement différent de 0 alors le danger associé au mélange est supérieur à celui déterminé par l'indice de danger HI
- si l'indice est négatif et significativement différent de 0 alors le danger associé au mélange est inférieur à celui déterminé par l'indice de danger HI
- si l'indice est proche ou égal à 0, la prise en compte des interactions ne modifie pas le résultat obtenu par la méthode de l'indice de danger HI

Étape 7a : Cas où l'indice de danger HI est inférieur à 1 pour le mélange

Si les interactions sont plus qu'additives, le mélange est susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel.

Si les interactions sont moins qu'additives ou s'il y a additivité, le mélange n'est pas susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel.

A cette étape, il faut être particulièrement vigilant aux doses considérées dans l'évaluation. Les conclusions sont fournies en association étroite avec les concentrations considérées des substances dans le mélange.

Etape 7b : Cas où l'indice de danger HI est supérieur à 1 pour le mélange

Si les interactions sont plus qu'additives ou s'il y a additivité, le mélange est susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel.

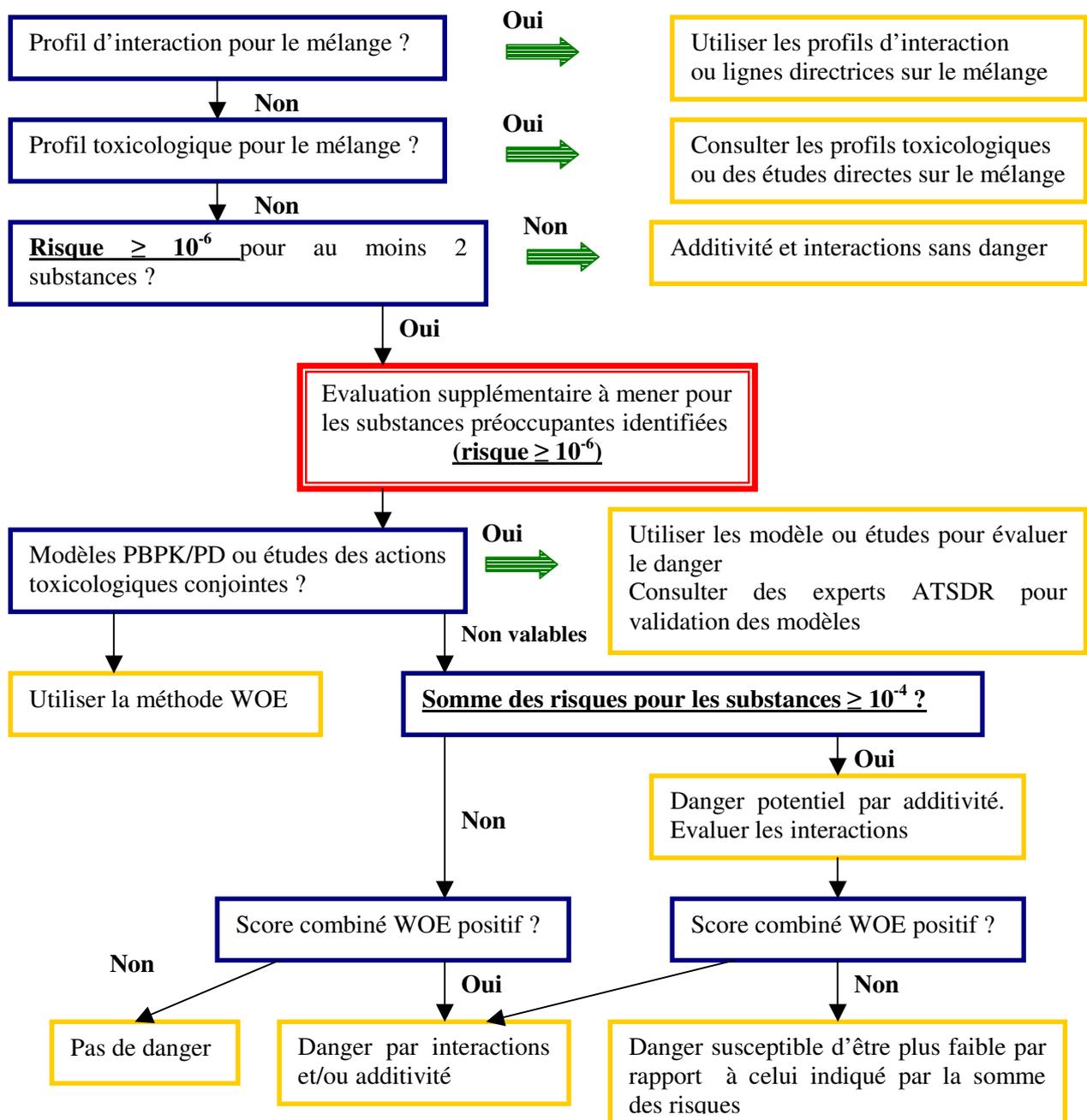
Si les interactions sont moins qu'additives, le mélange n'est pas susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel.

Cependant, étant donné les incertitudes et la part subjective propre à chaque évaluateur, des investigations supplémentaires sont nécessaires pour valider un premier résultat.

Annexe 4b : étapes de l'évaluation des risques liés à un mélange : effets sans seuil (ATSDR, 2004)

- Schéma de synthèse des étapes
- Description des étapes

Schéma de synthèse des étapes, effets sans seuil (d'après ATSDR, 2004)



Description des étapes, effets sans seuil (d'après ATSDR, 2004)

Etape 1 : Utiliser les profils d'interactions relatifs au mélange

A cette étape, la logique de la démarche est proche de celle des effets non cancérogènes ; Cependant, les études menées par ATSDR donnent des éléments d'évaluation de risques par les méthodes : WOE, PBPK/PD et TEF. Les méthodes HI, TTD ne sont pas utilisées pour les effets cancérogènes.

Etape 2 : Sinon, utiliser les profils toxicologiques relatifs au mélange

Dans les profils toxicologiques édités par ATSDR, les données relatives aux effets cancérogènes sont analysées : état d'avancement, pertinence, avis des autres instances, existence de relations dose-réponse (slope factor pour la voie orale). Les relations proposées par US-EPA et IRIS sont à consulter.

Etape 3 : Si aucun document de référence n'existe pour le mélange d'étude, sélectionner les composés pertinents en terme de risque sanitaire

La logique de cette étape est proche de celle des effets non cancérogènes.

Ainsi, si les données relatives au mélange sont insuffisantes, l'utilisation des données individuelles pour chaque substance est nécessaire. A cette étape, il est particulièrement important d'identifier les substances pertinentes au sein du mélange. Les critères généraux de choix sont les suivants :

- identification d'un danger pour la santé
- niveaux d'exposition supérieurs aux valeurs de la réglementation
- interactions ou additivité potentielles avec d'autres composés

Par contre, la caractérisation du danger relatif aux effets cancérogènes s'effectue différemment et selon les règles suivantes :

- si toutes les substances sont associées à un risque inférieur à 10^{-6} , les phénomènes d'additivité et d'interactions ne sont pas susceptibles de constituer un danger pour la santé.
- si un seul des composés présente un risque supérieur à 10^{-4} , l'étude ne correspond plus à une problématique de mélanges.

Il peut alors être utile de se référer au guide de l'ATSDR relatif aux effets individuels des substances (ATSDR, 1992).

Si un dépassement du risque est supérieur à 10^{-6} est observé pour deux éléments ou plus, une évaluation des dangers par les étapes 4 à 6 est nécessaire.

Etape 4 : Evaluer et utiliser les modèles PBPK/PD ou les études expérimentales d'action toxique conjointe

Les recommandations sont identiques à celles de l'étape 4 des effets non cancérogènes.

Etape 5 : Sommer les facteurs de risques des substances identifiées du mélange

Si la somme dépasse la valeur de 10^{-4} estimée représentative d'un risque significatif (ATSDR, 1992) alors le mélange constitue un danger potentiel pour la santé par additivité.

Cependant des investigations supplémentaires sont nécessaires puisque les interactions ne sont pas prises en compte dans cette méthode.

Ainsi, que la somme soit inférieure ou supérieure à la valeur de référence, il est indispensable d'aller à l'étape 6.

Etape 6 : Appliquer la méthode WOE (« Weight-of-evidence »)

Cette méthode permet de prévoir l'effet des actions conjointes lorsque les données ne sont pas suffisantes pour mener une évaluation quantitative.

L'indice BINWOE est ainsi identifié (Cf. 2.3.3.2.) afin de déterminer si le danger sera supérieur ou non à celui obtenu par la somme des risques (étape 5).

Des conditions particulières sont requises pour utiliser cette méthode :

- voie et durée d'exposition identifiées
- spécificité de l'effet sanitaire ou de l'organe cible

Pour interpréter les résultats, les règles suivantes sont énoncées :

- si l'indice est positif et significativement différent de 0 alors le danger associé au mélange est supérieur à celui déterminé par la somme des risques
- si l'indice est négatif et significativement différent de 0 alors le danger associé au mélange est inférieur à celui déterminé par la somme des risques
- si l'indice est proche ou égal à 0, la prise en compte des interactions ne modifie pas le résultat obtenu par la somme des risques

Etape 6a : Cas où la somme des risques est inférieure à 10^{-4} pour le mélange

Si les interactions sont plus qu'additives, le mélange est susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel.

Si les interactions sont moins qu'additives ou s'il y a additivité, le mélange n'est pas susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel.

A cette étape, il faut être particulièrement vigilant aux doses considérées dans l'évaluation. Les conclusions sont fournies en association étroite avec les concentrations considérées des substances dans le mélange.

Etape 6b : Cas où la somme des risques est supérieure à 10^{-4} pour le mélange

Si les interactions sont plus qu'additives ou s'il y a additivité, le mélange est susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel.

Si les interactions sont moins qu'additives, le mélange n'est pas susceptible de constituer un danger sanitaire potentiel.

Cependant, étant donné les incertitudes et la part subjective propre à chaque évaluateur, des investigations supplémentaires sont nécessaires pour valider un premier résultat.

Annexe 5 : fiches méthodologiques (d'après US-EPA, 2000)

Les entrées des fiches correspondent au type de données relatives aux substances du mélange.

Fiche 1 : Données sur les substances du mélange (méthode HI)

Données nécessaires : données toxicologiques et d'exposition pour les substances du mélange, relations dose-réponse de qualité

Hypothèses : additivité des doses : mode d'action identique des substances du mélange ou sinon organe cible commun, courbes dose-réponse semblables

Méthode : Indice de danger (Hazard Index HI)

Actions : caractériser le danger pour chaque substance : ratio du niveau d'exposition sur RfD ou C, sommer les ratios et obtention d'un HI par effet sanitaire

Limites : données d'exposition à faibles doses (proches DMSENO) sans interactions, variations des ratios selon le choix du niveau d'exposition

Incertitudes : définition de mécanismes communs d'action, pertinence des données d'exposition

Niveau d'utilisation : simple

Exemples : nombreux car méthode de base

Fiche 2 : Données sur les substances du mélange (méthode TEF)

Données nécessaires : données toxicologiques et d'exposition pour les substances du mélange, données manquantes pour certaines substances

Hypothèses : additivité des doses : mode d'action identique des substances du mélange ou sinon organe cible commun, courbes dose-réponse semblables

Méthode : Toxic equivalency factor (TEF)

Actions : pondération des niveaux d'exposition par rapport à une substance choisie (en général la mieux étudiée)

Limites : qualité des données, pas de données pour toutes les voies d'exposition, modes communs d'action non identifiés

Incertitudes : définition de mécanismes communs d'action, pertinence des données d'exposition

Niveau d'utilisation : compliqué (modèles statistiques)

Exemples : démarche nouvelle non éprouvée

Fiche 3 : Données sur les substances du mélange (méthode d'additivité des réponses)

Données nécessaires : données toxicologiques et d'exposition pour les substances du mélange, relations dose-réponse de qualité

Hypothèses : additivité des doses : mode d'action identique des substances du mélange ou sinon organe cible commun, courbes dose-réponse semblable

Méthode : Additivité des réponses

Actions : risque au niveau d'exposition considéré déterminé par effet et par substance à partir des relations dose-réponse, addition des risques (hypothèse d'indépendance) et obtention d'un risque caractéristique du mélange

Limites : limité aux expositions à faibles doses et aux actions toxicologiques indépendantes

Incertitudes : indépendance supposée des actions toxicologiques des substances, pertinence des données d'exposition

Niveau d'utilisation : simple

Exemples : mélanges de substances cancérigènes (US-EPA et IRIS, 2000)

Fiche 4 : Données sur les substances du mélange (méthode HI modifiée)

Données nécessaires : données toxicologiques et d'exposition pour les substances pour les substances du mélange et des données d'interactions pour au moins un couple du mélange

Hypothèses : interactions par couples de substances dans le mélange, ampleur des interactions non dépendante de la dose mais dépendante de la proportion des substances

Méthode : HI modifiée (Interactions-HI)

Actions : Déterminer la part des interactions par une matrice binaire par couples de substances (BINWOE). Multiplier les HI par un facteur intégrant les interactions au moyen du BINWOE.

Limites : données d'interactions disponibles, peu de tests et de validation

Incertitudes : interactions supposées par couples de substances dans le mélange, pertinence des données d'exposition

Niveau d'utilisation : compliqué Exemples : démarche nouvelle non éprouvée

Annexe 6 : éléments d'évaluation de la qualité des données

Eléments de classification pour l'évaluation de la qualité des données
(d'après US-EPA, 2000)

Interactions
ERS basée sur les données du mélange
ERS basée sur les données d'un mélange semblable
Interactions entre les substances bien caractérisées
Hypothèse d'additivité justifiée : effets sanitaires et nombre de composés
Hypothèse d'additivité non justifiée et pas d'ERS quantitative
Effets sanitaires
Données sur tous les effets et peu d'extrapolation nécessaire
Données sur tous les effets Extrapolation importante : voie et durée d'exposition, différences entre espèces Extrapolation basée sur des informations pertinentes : pharmacocinétique, observations empiriques...
Données sur tous les effets Extrapolation importante : voie et durée d'exposition, différences entre espèces Extrapolation non basée directement sur ces éléments : pharmacocinétique, observations empiriques...
Données manquantes sur certains effets importants Extrapolation importante : voie et durée d'exposition, différences entre espèces
Données manquantes sur les effets du mélange et les substances Pas d'évaluation quantitative des risques
Exposition
Monitoring et modèles d'exposition pour le mélange ou toutes les substances
Modèles d'exposition pour le mélange ou toutes les substances
Manque d'informations, incertitude et variabilité
Toutes les substances du mélange ne sont pas caractérisées Niveaux d'exposition incertains ou variables
Données d'exposition insuffisantes pour mener une ERS

En vert : Qualité bonne

En orange : Qualité moyenne

En rouge : Qualité mauvaise

**Annexe 7 :
caractéristiques des dépassement en As ou Sb avec détection conjointe en As et Sb**

Tableau a : caractéristiques des dépassements d'As avec détection conjointe en As et Sb (Sise-Eaux, DGS-DRASS-DDASS, 2003-2006)

Paramètre	Nombre d'habitants	Concentration moyenne (µg/L)	Concentration maximale (µg/L)	Concentration moyenne NC (µg/L)
As	100	13,8	17	14,3
	15	58	58	58
	30	14,4	17	14,4
	0	11,8	13	12,2
	1291	16,9	156	108,5
	862	30,2	40	30,2
	20	35,2	40	35,2
	440	31,0	41	31
	150	12,3	30	24,1
	1400	10,4	13	12
	50	19,5	31,6	20,9
	750	15,2	28	18,2
	500	24,4	51	26,2
	200	23,8	30,8	25,8
	2032	14,2	17	14,2
160	16,5	17	16,5	

L'étude des données Sise Eaux (Direction Générale de la Santé-DRASS-DDASS) sur la période 2003-2006 où seul l'arsenic est en dépassement montre que :

- au moins un dépassement de la limite de qualité pour l'arsenic (observé conjointement avec la présence d'antimoine) est enregistré pour au maximum 16 unités localisées dans 7 départements
- la concentration maximale en arsenic de ces non-conformités est proche de 35 µg/L

Tableau b : caractéristiques des dépassements de Sb avec détection conjointe en As et Sb (Sise-Eaux, DGS-DRASS-DDASS, 2003-2006)

Paramètre	Nombre d'habitants	Concentration moyenne (µg/L)	Concentration maximale (µg/L)	Concentration moyenne NC (µg/L)
Sb	20	15,8	29,5	19,75
	440	16	28,4	18,03
	150	11,6	30	16,47
	300	13,8	21,7	13,87
	355	13,8	19,2	13,85
	1600	11	21,1	12,09
	60	19,2	30,9	19,18
	50	11,8	22,4	12,81
	750	8,5	22,4	10,66
	660	6,4	16	12,64
	200	5,4	7,7	6,3

L'étude des données Sise Eaux (Direction Générale de la Santé :DRASS/DDASS – Sise-Eaux) sur la période 2003-2006 où seul l'antimoine est en dépassement montre que :

- au moins un dépassement de la limite de qualité pour l'antimoine (observé conjointement avec la présence d'arsenic) est enregistré pour 11 unités localisées dans le même département
- la concentration maximale en antimoine de ces non-conformités est proche de 31 µg/L

A. Profil toxicologique de l'arsenic

- A.1. Origines et évolutions dans l'environnement**
- A.2. Cinétique et métabolisme**
- A.3. Mécanismes d'action et effets sur la santé**
- A.4. Valeurs toxicologiques de référence**
- A.5. Interrogations**

B. Profil toxicologique de l'antimoine

- B.1. Origines et évolutions dans l'environnement**
- B.2. Cinétique et métabolisme**
- B.3. Mécanismes d'action et effets sur la santé**
- B.4. Valeurs toxicologiques de référence**
- B.5. Interrogations**

A. Profil toxicologique de l'arsenic

A.1. Origines et évolutions dans l'environnement

Formes chimiques

L'arsenic est présent sous plusieurs degrés d'oxydation : -3, 0, +III et V. Les composés minéraux les plus fréquents sont combinés avec l'oxygène : arsénites As(III) et arséniates As(V).

Dans l'eau, la solubilité des composés de l'arsenic est variable. Il apparaît que la solubilité des formes pentavalentes est supérieure à celle des formes trivalentes.

L'arsenic inorganique est majoritaire dans les eaux naturelles. En particulier, dans les eaux bien aérées, les arséniates sont majoritaires sous la forme H_2AsO_4 et $HAsO_4^{2-}$. Par contre, l'apparition de conditions réductrices conduit à la prédominance des arsénites sous forme H_3AsO_3 (OMS, 2003). Des espèces issues de la méthylation de l'arsenic MMA et DMAA peuvent également être présentes dans l'eau (Ineris, 2006).

Source d'exposition

L'arsenic est présent dans le milieu, particulièrement dans certaines roches de la croûte terrestre : les arsénopyrites contenant plus de 99 % de l'arsenic présent dans le milieu et secondairement les sulfures.

Les phénomènes d'érosion, de lessivage des sols ainsi que les réactions d'oxydoréductions et précipitations conduisent à une distribution de l'arsenic dans le milieu aquatique.

L'arsenic est produit par l'industrie à 97 % sous forme d' As_2O_3 . L'utilisation de produits industriels et agricoles entraîne une accumulation d'arsenic dans le milieu. La majeure partie de l'arsenic anthropique provient des fumées industrielles et de la combustion de produits de type charbons et pétroles.

Une exposition environnementale peut avoir lieu par les scénarios suivants :

- émission d'arsenic à partir de fonderie de cuivre et concentration élevée dans le sol
- exposition géologique par des minerais riches en arsenic
- exposition par l'eau potable : l'arsenic est caractérisé par un transfert élevé des roches jusqu'à l'eau potable. Une des particularités importantes à retenir est la solubilité de la pyrite, minéral riche en arsenic dans les eaux souterraines.

Pour l'homme, le scénario d'exposition à l'arsenic dominant en termes de risque sanitaire est lié à l'ingestion d'eau potable (OMS, 2003 ; Gebel, 2001).

Par exemple, dans les régions du Bengale et du Bangladesh, plus de 25 millions d'habitants sont exposés à de l'eau contaminée à des teneurs pouvant dépasser 50 µg/L.

Un lien a été établi entre exposition à l'arsenic et augmentation de l'incidence de maladies de type cancers de la peau et internes ainsi que des effets non cancérogènes tels des dysfonctionnements vasculaires, neurologiques et des diabètes.

A ce stade des connaissances, l'objectif est de mettre en évidence les principales interrogations persistantes concernant la toxicité de l'arsenic.

A.2. Cinétique et métabolisme

Les données concernant le métabolisme de l'arsenic inorganique sont nombreuses. La plupart des études sont faites chez les animaux mais des données fiables existent chez l'homme (ATSDR, 2005). Il est à noter que l'arsenic n'est pas un élément essentiel chez l'homme (IPCS, 2001).

Chez l'animal :

La distribution de l'arsenic dans l'organisme est différente selon les espèces animales. Il est suggéré que le rat n'est probablement pas un bon modèle toxicocinétique pour les humains (ATSDR, 2005). Les quantités de métabolites de l'arsenic sont variables selon les espèces testées et ne sont pas transposables directement à l'homme.

Chez l'homme :

- L'absorption est rapide au niveau du tractus gastrointestinal (OMS, 2003). Les formes trivalentes et pentavalentes sont bien absorbées par voie orale et inhalation (ATSDR, 2005). L'absorption de l'arsenic par voie orale est de l'ordre de 95% (Ineris, 2006). L'absorption dépend de la biodisponibilité et donc de la solubilité des formes de l'arsenic.

- La distribution de l'arsenic s'effectue ensuite dans tous les organes. L'arsenic s'accumule sous forme inorganique préférentiellement dans la peau, le tissu osseux, le foie, les reins et les muscles (OMS, 2003). Cependant, en cas d'intoxication aiguë, des taux particulièrement élevés sont présents dans le foie et les reins (North, 1992).

- Les arsénites As(V) sont oxydés en arsénates As(III). La principale réaction du métabolisme est la méthylation de l'arsenic sous forme de métabolites diméthylés : MMA (acide monométhylarsonique) et DMA (acide diméthylarsonique). Ce processus tend à éliminer l'arsenic de l'organisme (Buchet et Lauwerys, 1981). Cependant, cet effet protecteur est actuellement discuté étant donné la toxicité potentielle des métabolites. (Thomas *et al.*, 2001). Cependant, en l'absence d'études supplémentaires, il est admis que la réaction de méthylation a un effet global protecteur (Vahter, 2007).

- Des études ont mis en évidence une élimination de 46 à 63 % de la dose ingérée 4 à 5 jours après ingestion (Buchet et Lauwerys, 1988 ; Vahter, 1983), 30 % après une semaine et le reste après plus d'un mois (Pomroy, 1980).

L'élimination de l'arsenic dépend de sa valence, de la voie d'administration et de la dose.

La plupart de l'arsenic est excrété dans les urines sous forme d'un mélange d'As(III), As(V), MMA et DMA. Une faible quantité est excrétée dans les fèces.

Une élimination facilitée est constatée pour l'arsenic sous forme trivalente, par voie orale et à faible dose (Vahter, 1981).

La dose interne d'arsenic inorganique est déterminée par mesure dans les urines (OMS, 2003). Les concentrations en métabolites dans les urines sont de l'ordre de 10 µg/l dans les pays européens. Au Bengal et au Bangladesh, ces valeurs peuvent être de l'ordre de 1 mg/l (IPCS, 2001)

Il est important de noter que le mécanisme de toxicité de l'arsenic est différent selon sa valence.

L'As(III) est capable d'inhiber le complexe enzymatique pyruvate déshydrogénase qui intervient dans le métabolisme cellulaire. L'As(III) a une action sur d'autres enzymes comportant des groupements thiols, qui sont impliquées dans le transport membranaire du glucose (Liebl *et al.*, 1992) ou dans les réactions de synthèse du glutathion, composé facilitant le métabolisme de l'arsenic.

Concernant l'As(V), sa transformation en As(III) est un élément important de sa toxicité sur l'organisme. Cependant, il a également une influence sur les phosphorylations dans les réactions de glycolyse et perturbe en ce sens les réactions du métabolisme cellulaire (Huang et Lee, 1996).

A.3. Mécanismes d'action et effets sur la santé

De nombreuses monographies ont été réalisées sur l'arsenic (IPCS, 1981 ; US-EPA ; 1998 ; OMS, 2003 ; ATSDR, 2005 ; Santé Canada, 2006).

Effets sur la santé

a. Toxicité aiguë

Etudes chez l'animal :

L'As(III) est plus toxique que l'As(V) (IPCS, 1981).

Par voie orale, la DL₅₀ est comprise entre 15 et 293 mg/kg de poids corporel chez le rat et entre 11 et 150 mg/kg pour les autres animaux testés.

Un effet par voie cutanée n'a pas été démontré de façon systématique (Ineris, 2006).

Etudes chez l'homme :

La toxicité aiguë de l'arsenic est fonction de sa forme dans l'organisme (OMS, 2003) : l'As(III) est plus toxique que l'As(V) et les composés organiques de l'arsenic.

L'ingestion d'eau contenant 1,2 à 21 mg/l d'arsenic a conduit à des effets toxiques de type gastro-intestinaux : nausées, vomissements, douleurs abdominales et diarrhées quelques minutes à quelques heures après ingestion (OMS, 2003, Marsha et Ford, 1998).

D'autres effets ont été recensés : troubles respiratoires, confusion, perte de mémoire, irritabilité, convulsions (Danan *et al.*, Marsha et Ford, 1998) et lésions cutanées (Park et Currier, 1991 ; Valentine *et al.*, 1992).

Les doses létales sont estimées entre 1 et 3 mg/kg/j d'arsenic (Levin-Sherz *et al.*, 1987 ; Civantos *et al.*, 1995 ; Benramdane *et al.*, 1999).

b. Toxicité subchronique et chronique

Une grande partie des effets par voie orale sont induits par les espèces inorganiques de l'arsenic présentes dans l'eau de boisson.

b.1. Effets systémiques

- Effet cutané

Etudes chez l'homme :

L'un des principal organe cible identifié est la peau concernant les espèces inorganiques de l'arsenic.

De nombreuses études sur l'homme s'accordent sur les symptômes observés : lésions d'hyperkératose des paumes de mains et des pieds associées à des zones d'hyperpigmentations sur la face, le cou et le dos (OMS, 2003).

Il est important de retenir que ces effets cutanés sont des indicateurs fiables d'une exposition à de l'arsenic.

Un niveau sans effet observé de l'ordre de 0,0008 mg/kg/j a été déterminé à Taïwan à partir du suivi d'une population de 17 000 personnes (Tseng *et al.*, 1968).

La survenue de symptômes d'hyperkératose peut conduire à des lésions cancéreuses.

- Effets cardiovasculaires

Etudes chez l'homme :

Des effets cardiovasculaires ont été identifiés suite à l'ingestion d'eau contenant des espèces inorganiques de l'arsenic (Goldschmith et From, 1980 ; Little *et al.*, 1990 ; Joye *et al.*, 1999).

Des expositions à court et long termes conduisent à une altération du myocarde, arythmie cardiaque (Cullen *et al.*, 1995 ; Moore *et al.*, 1994 ; Little *et al.*, 1990)

A long terme, une altération du système vasculaire appelée « maladies des « pieds noirs est mise en évidence par des études (Tseng, 1977 ; Chen *et al.*, 1988 et 1996 ; Abernathy *et al.*, 1989).

L'étude de l'origine de la « maladie des pieds noirs » dans la région de Taïwan a permis d'établir un lien causal avec l'ingestion d'eau contenant de l'arsenic à des doses de 0,014 à 0,065 mg/kg/j (Tseng, 1977).

Une altération de la circulation sanguine conduit à une coloration sombre de la peau (Chen *et al.*, 1988, Tseng, 1977 et 1989).

Dans les régions marquées par cette maladie, une augmentation des décès pour raisons cardiaques a été recensée de manière significative lorsque les contaminations en arsenic sont élevées (Chen *et al.*, 1988 et 1996, Tsai *et al.*, 1999).

Une étude menée à grande échelle dans 30 villes américaines par comparaison du nombre de décès cardiovasculaires observés et attendus a mis en évidence un excès de mortalité pour des taux d'arsenic supérieurs à 20 µg/l (Engel et Smith, 1994).

L'étude menée par Lewis *et al.* (1999) confirme cet excès de risque significatif.

Etudes chez l'animal :

Des expositions répétées à des doses de trioxyde d'arsenic de 11 mg/kg/j pendant plusieurs semaines conduisent à la survenue d'altérations vasculaires (Bekemeier et Hirschelmann, 1989).

Un effet sur les fonctions cardiaques est mis en évidence chez des rats Wistar mâles et des lapins New Zealand femelles par ingestion d'eau contenant 50 mg/l d'As(III) pendant respectivement 18 et 10 mois. Ce résultat n'est pas mis en évidence par ingestion de As(V) (Carmignani *et al.*, 1985).

Il est à noter qu'aucun effet sur les tissus cardiaques n'est relevé chez le rat et le chien lors d'une exposition aux formes trivalentes et pentavalentes pendant 2 ans (Byron *et al.*, 1967). De même, aucun effet immunodépresseur n'est relevé après une exposition orale chez la souris à 20 mg/kg/j pendant 10 à 12 semaines (Kerkvliet *et al.*, 1980).

- **Effets hématologiques**

Etudes chez l'homme :

L'apparition d'effets hématologiques de type anémies et leukopénie a été recensé suite à l'ingestion de dérivés inorganiques pour des niveaux d'exposition supérieurs à 0,07 mg/kg/j par voie orale (Huang *et al.*, 1985).

Etudes chez les animaux :

Une diminution du nombre d'érythrocytes chez des souris exposées est observée à 6 mg/kg/j pendant 1-4 j mais aucun effet n'est observé à 3 mg/kg/j (ATSDR, 1992).

- **Effets hépatiques**

Etudes chez l'homme :

Beaucoup d'études mettent en évidence des symptômes hépatiques.

Des fibroses du foie sont observées pour des expositions répétées à 0.01-0.1 mg/kg/j et 0.006 mg/kg/j et des expositions aiguës à 2 mg/kg/j (Chakraborty et Saha, 1987 ; Mazumder *et al.*, 1988). Cependant, il n'y a pas une grande cohérence dans les études : types de populations et durée (ATSDR, 1992).

Chez les animaux :

Exposition aiguë : plusieurs études

- **Effets sur le système nerveux**

Etudes chez l'homme :

De nombreuses études ont également mis en évidence la survenue d'atteintes du système nerveux à des doses faibles comprises entre 0,019 et 0,5 mg/kg/j (Huang *et al.*, 1985 ; Franzblau et Lilis, 1989).

Etudes chez l'animal :

Aucun effet immunodépresseur ne sont relevés pour une exposition orale chez la souris à 20 mg/kg/j pendant 10 à 12 semaines (Kerkvliet *et al.*, 1980).

En résumé, les principaux tissus et organes cibles identifiés concernant les effets systémiques de l'arsenic par ingestion sont : la peau, le système cardiovasculaire et le sang et secondairement le foie et le tractus digestif.

b.2. Effets sur la reproduction et le développement

Bien que l'arsenic semble avoir des propriétés tératogènes par voie parentérale, ce phénomène n'est pas démontré par voie orale (OMS, 2003).

Classification :

Union européenne

Catégorie 1 (« substances connues pour altérer la fertilité dans l'espèce humaine ou pour provoquer des effets toxiques sur le développement dans l'espèce humaine) et 3 (« substances préoccupantes pour la fertilité dans l'espèce humaine ou pour l'homme en raison d'effets toxiques possibles sur le développement ») : arséniate de plomb (1998)

Non classé reprotoxique : pentoxyde d'arsenic (1998)-trioxyde d'arsenic (1998)- acide arsénique et ses sels (1998), arsenic (2004)

Aucune étude fiable n'a été réalisée chez l'homme pour cet effet (Ineris, 2006).

Etudes chez l'animal :

L'As(V) et l'As(III) ont la capacité de passer la barrière placentaire chez les animaux.

Un suivi de trois générations de souris exposées à de l'arsénite de sodium à 1 mg/kg/j ne montre pas d'effet significatif sur la reproduction (Schroeder et Mitchener, 1971).

Par contre, des souris femelles exposées à des doses de 26 à 68 mg/kg/j d'arsénite de sodium ont des fœtus susceptibles d'avoir plus de malformations (Baxley *et al.*, 1981).

Aucune altération n'est mise en évidence pour des concentrations de l'ordre de 4 à 12 mg/kg/j.

b.3. Cancérogénicité et génotoxicité

Cancérogénicité par voie orale

Il est important de noter que le risque de développer un cancer cutané peut être associé à l'ingestion d'arsenic par l'eau de boisson.

Ce constat est mis en évidence par de nombreuses études épidémiologiques.

Etudes chez l'homme :

Des études épidémiologiques solides d'un point de vue statistique ont établi un lien entre ingestion d'eau et cancer cutané. Une population de 37 villages taïwanais soit plus de 40 000 individus exposés à des concentrations pouvant atteindre 1820 µg/L est comparée à un groupe similaire mais exposé à des concentrations maximales de 17 µg/L. Cette étude cas-témoins a mis en évidence une prévalence des cas de cancers cutanés associés à la consommation d'eau riche en arsenic (Tseng *et al.*, 1968 et 1977). Ce résultat est confirmé par plusieurs études de populations exposées à des concentrations élevées comme en Argentine (Hopenhayn-Rich *et al.*, 1998), au Chili (Ferreccio *et al.*, 1998 et 2000) ou au Mexique (Cebrian *et al.*, 1983).

Par contre, il est intéressant de remarquer que ce lien n'est pas établi pour des populations vivant dans les Andes depuis des générations et exposées à des fortes concentrations (Vahter, 2000). Ceci suggère une capacité d'adaptation de ces populations d'un point de vue génétique.

Ce point est à analyser en vue de progresser dans la connaissance du mode d'action de l'arsenic sur l'organisme.

Des études épidémiologiques ont également démontré un lien entre cancer de la vessie, des reins, du foie et des poumons et ingestion d'eau contaminée par de l'arsenic (Wu *et al.*, 1989, Chen et Wang, 1990).

Il est important de remarquer que la plupart des études ont été réalisées chez des populations aux modes de vie spécifiques différents parfois des habitudes occidentales. Ce constat est à prendre en compte en termes d'évaluation des risques (Ineris, 2006). En particulier, les habitudes alimentaires et les adaptations au contexte local constituent des biais dans la compréhension de l'effet toxique de l'arsenic sur l'organisme.

Les études épidémiologiques ont mis en évidence une association entre ingestion à long terme d'eau contaminée avec de l'arsenic et cancers de la peau, poumons, vessie et reins. Une augmentation de risques de cancers des poumons et de la vessie et de lésions cutanées est associée à une ingestion d'eau à des concentrations inférieures à 50 µg/l (OMS, 2003, IPCS, 2001).

Etudes chez l'animal :

Les essais biologiques classiques *in vivo* n'ont pas démontré la cancérrogénicité de l'arsenic. Une augmentation significative de tumeurs des reins a été observée chez des rats Wistar mâles par ingestion de 160 mg/l d' As(III) pendant 25 semaines (Shirachi *et al.*, 1986).

Des modèles animaux sont utilisés pour comprendre les mécanismes d'action cancérigène (OMS, 2003 ; Wang *et al.*, 2002).

Génotoxicité

Etant donné le mode d'action indirect de l'arsenic, il n'est pas possible de mettre en évidence une relation dose-réponse avec seuil (Gebel, 2001 ; US-EPA, 2000 ; Avis en cours du Comité d'experts RCCP, 2007).

Le caractère clastogène et non mutagène de l'arsenic est démontré (Lee, 1988 ; Vega, 1995 ; Moore, 1996 ; Gebel, 1997).

L'arsenic est capable d'induire des cassures au niveau de chromosomes, des aberrations chromosomiques et des échanges de chromatides sur des nombreux types de cellules dont des cellules humaines (OMS, 2003).

L'affinité de l'arsenic pour le glutathion (GSH) et la diminution de la quantité de GSH pourrait expliquer l'augmentation des dommages des radicaux sur l'ADN (Thomas, 1994).

Cependant, il est important de noter que les résultats sont basés sur des expériences réalisées à fortes doses in vitro et ne sont pas représentatives d'une exposition réelle à de l'arsenic (Gebel, 2001).

En l'état actuel des connaissances, les mécanismes d'action génotoxique de l'arsenic ne sont pas clairement explicités (Gebel, 1997). Il semble que l'effet génotoxique s'exerce par liaison avec des groupements de protéines, induction d'un stress oxydant, altération de la méthylation de l'ADN et peut être inhibition de la réparation de l'ADN (Kitchin, 2007).

Le mécanisme de l'effet toxique à long terme de l'arsenic n'est pas connu actuellement (Gebel, 2001). Des études suggèrent une action de l'arsenic sur l'inhibition des enzymes impliquées dans la réparation de l'ADN. Cette hypothèse est cohérente puisque l'arsenic ne crée pas d'altérations directes au niveau de la structure de l'ADN. Cependant, cette inhibition a été démontrée *in vitro* à des doses bien supérieures par rapport à une situation *in vivo* (Li *et al.*, 1989). Une étude menée en 1997 a confirmé ce phénomène à des concentrations plus faibles (Hartwig, 1997).

L'arsenic inhibe les mécanismes de réparation de l'ADN de cellules V79 de hamsters (Okui et Fujiwara, 1986) et humaines (Jha *et al.*, 1992). Cette inhibition est plus élevée avec As₂O₃ par rapport à Na₂HAsO₄ (Okui et Fujiwara, 1986).

Cependant, il est possible que l'arsenic agisse de manière indirecte sur l'inhibition des enzymes de réparation par modulation du signal de transduction (Hu *et al.*, 1998 ; Rossman *et al.*, 1999).

Des données ont suggéré que le mécanisme d'action génotoxique de l'arsenic soit associé à un stress oxydant. Ce mécanisme conduirait alors à une altération de l'ADN (Norsenson, 1991, Lee, 1989, 1994 et 1995, Wang *et al.*, 1994).

Il correspond à la formation de radicaux libres par l'arsenic qui vont se fixer sur l'ADN.

Il est important de pointer qu'un effet cancérigène génotoxique de l'arsenic est supposé mais n'est pas démontré. Certaines études soulèvent l'hypothèse d'un rôle de l'arsenic dans l'altération de la méthylation de l'ADN par modulation de certains facteurs d'expression (Mass, 1997 ; Huff, 2000).

Il est à noter que les métabolites de l'As(III) sont susceptibles *in vitro* d'exercer une génotoxicité supérieure à celle d'As(III) (Mass *et al.*, 2001).

Classement de cancérigénicité

Union européenne :

Catégorie 1 : « substances que l'on sait être cancérigènes pour l'homme »

Pentoxyde d'arsenic (1998)-trioxyde d'arsenic (1998)-arséniate de plomb (1998)-acide arsénique et ses sels (1998)

CIRC : Groupe 1 : cancérigène pour l'homme (1987) : arsenic et ses composés

US-EPA (IRIS) : classe A : substances cancérigènes pour l'homme (1998) : arsenic

En résumé, l'arsenic est un cancérogène pour l'homme (CIRC, 1987 ; IRIS, 1998), génotoxique (US-EPA, 1998), clastogène et non mutagène (Lee, 1988 ; Vega, 1995 ; Moore, 1996 ; Gebel, 1997). Cependant, de nombreuses incertitudes persistent concernant les mécanismes d'action cancérogène de l'arsenic (ATSDR, 2005 ; Ineris, 2006).

A.4. Valeurs toxicologiques de référence

Valeurs toxicologiques de référence de l'arsenic

Source	Année de révision	Voie d'exposition	Valeur de référence	Facteur d'incertitude	NOAEL (mg/kg/j)	LOAEL	Effet critique
ATSDR	2000	Orale	MRL = $3 \cdot 10^{-4}$ (mg/kg/j)	3	0,016	-	Avec seuil "Maladie des pieds noirs" Hyperpigmentation Kératose
ATSDR	2000	Orale	MRL = $3 \cdot 10^{-4}$ (mg/kg/j)	3	0,0008	-	Avec seuil Lésions cutanées
US-EPA	1993	Orale	RfD = $3 \cdot 10^{-4}$ (mg/kg/j)	3	0,0008	0,014	Avec seuil Lésions cutanées "Maladie des pieds noirs" Hyperpigmentation Kératose
US-EPA	1998	Orale	ERU _o = 1,5 (mg/kg/j) ⁻¹				Sans seuil Cancer cutané
Santé Canada	1992		DT0,05 = $1,8 \cdot 10^{-2}$ (mg/kg/j)				Sans seuil Cancer cutané

A.5. Interrogations

Malgré les nombreux travaux publiés, plusieurs interrogations persistent et tendent à rendre difficile la réalisation d'évaluation de risques.

Par ailleurs, les données publiées actuellement ne permettent pas de déterminer l'effet potentiel d'une exposition conjointe à d'autres éléments sur les effets sanitaires de l'arsenic (Hasgekar et al., 2006).

Les interrogations récurrentes portent sur les points suivants :

- mécanismes de cancérogénicité de l'As
- métabolisme : méthylation de l'arsenic à considérer en tant que processus de détoxification ou non : génotoxicité des métabolites de l'arsenic
- lien entre exposition à long terme à faible dose et tolérance accrue à la toxicité aiguë de l'As
- existence de facteurs de modulation de la toxicité de l'arsenic (tests in vitro) : variables conduisant à augmenter ou diminuer la génotoxicité :
 - facteurs de nutrition : Se, Zn
 - contaminants dans l'eau potable : Sb

Il est démontré que l'antimoine Sb(III) est capable de diminuer la génotoxicité de l'arsenic (Gebel, 2001).

B. Profil toxicologique de l'antimoine

Plusieurs monographies ont été réalisées sur l'antimoine (IRIS, 1998 ; OMS, 2003 ; ATSDR, 1992 ; Santé Canada ; 1999).

B.1. Origines et évolutions dans l'environnement

Formes chimiques

L'antimoine se présente sous différentes (ATSDR, 1992) :

- formes organiques : tartrate d'antimoine de potassium APT (très soluble), tartrate d'antimoine de sodium (AST), acétate d'antimoine
- antimoine trivalent inorganique : trioxyde d'antimoine (ATO), trichlorure d'antimoine, trisulfure d'antimoine, stibine
- antimoine pentavalent inorganique : pentoxyde d'antimoine, pentasulfure d'antimoine

Composé	Formule	Solubilité
antimoine	Sb	insoluble
Trioxyde d'antimoine (ATO)	Sb ₂ O ₃	0,017 mg/l*
Tartrate d'antimoine de potassium (APT)	KSbOC ₄ H ₄ O ₆	très soluble
Tartrate d'antimoine de sodium (AST)	NaSbOC ₄ H ₄ O ₆	très soluble

Antimoine et composés (OMS, 2003)

(* Kuroda *et al.*, 1991)

Dans les eaux de consommation, l'antimoine est présent sous forme d'ions et de complexes solubles.

Le comportement de l'antimoine dans l'environnement est complexe. Ce composé est un contaminant des eaux en présence d'arsenic (Gebel, 1999). Peu de données s'intéressent à la spéciation de l'antimoine dans les eaux. Il semble que la forme prédominante soit celle d'un anion pentavalent Sb(OH)₆⁻ (Cotton et Wilkinson, 1999 ; Mohammad *et al.*, 1990).

Source d'exposition

- Origine naturelle

L'antimoine est peu abondant dans le milieu naturel. Il est présent dans la stibine (SbS₂), minéral associé à des minéraux sulfurés dont la pyrite et la galène dans les roches du socle. Il peut être ainsi présent dans les eaux de terrains riches en minéraux sulfurés.

- Origine anthropique

L'antimoine a une utilisation technique limitée, principalement centrée sur la fabrication de batteries. Cependant, il peut être utilisé en association avec d'autres métaux pour accroître leur dureté. La présence d'antimoine dans l'eau est liée en grande part à son lessivage à partir de sols contaminés et à sa dissolution à partir de canalisations. Il est à noter que l'antimoine peut être présent au niveau de soudures sans plomb des réseaux de distribution publique.

B.2. Cinétique et métabolisme

L'absorption est lente par le tractus intestinal, fonction de la solubilité et de la forme chimique de l'antimoine (OMS, 2003 ; Santé Canada, 1999).

Chez l'homme, il y a peu de données quantitatives sur l'absorption de l'antimoine au niveau du tractus gastro-intestinal (ATSDR, 1992). Une absorption accidentelle d'antimoine a mis en évidence une absorption de l'ordre de 5% (Lauwers *et al.*, 1990).

Il est supposé que l'absorption de sels d'antimoine trivalent chez les hommes est probablement inférieure à 10 %. Ce phénomène est probablement influencé par de nombreux facteurs dont l'alimentation.

Bien que des données ne soient pas disponibles pour l'ensemble des formes de l'antimoine, les taux d'absorption de référence chez les hommes sont de l'ordre de 10 % pour l'APT et 1% pour les autres formes.

Chez les animaux, ATP et $SbCl_3$ sont absorbés à des taux de 2 à 7 % (Felicetti *et al.*, 1974, Gerber *et al.*, 1982).

La distribution dans l'organisme est fonction de la valence et de la voie d'administration (Santé Canada, 1999).

Après absorption, l'antimoine est localisée au niveau des globules rouges (Felicetti *et al.*, 1974 ; Gerber *et al.*, 1982 ; Dieter *et al.*, 1991) puis transporté principalement vers la rate, le foie et le tissu osseux et localisé de manière plus secondaire dans la peau et les cheveux (Felicetti *et al.*, Berman *et al.*, 1988).

Dans le sang, Sb(III) se localise préférentiellement dans les globules rouges tandis que Sb(V) se situe préférentiellement dans le plasma.

L'accumulation de Sb(III) dans le foie semble plus rapide par rapport à Sb(V).

Sb(III) est présent sous la forme $Sb(OH)_3$ et traverse aisément les membranes cellulaires du fait de sa neutralité.

Chez les animaux, les principaux sites d'accumulation sont le tractus gastrointestinal, le foie, les reins, les os, les poumons, la rate et la thyroïde et le cœur.

Chez les humains, une accumulation préférentielle s'effectue dans le foie, la thyroïde et le cœur (Santé Canada, 1999).

Le métabolisme de l'antimoine est peu caractérisé : la part de Sb(V) réduite en Sb(III) *in vivo* est inconnue (OMS, 2003). Il semble que les conditions de cette réaction ne correspondent pas aux conditions physiologiques de l'organisme. Un abaissement du pH peut conduire à cette réduction mais sinon, l'antimoine Sb(V) ingéré n'est pas susceptible d'être réduit (OMS, 2003).

L'élimination est fonction des espèces animales, de la voie d'administration et de la valence.

Chez les animaux, l'Sb(III) est excrété principalement dans les fèces tandis que l'Sb(V) est éliminé principalement dans les urines (Santé Canada, 1999 ; ATSDR, 1992).

Chez l'homme, l'antimoine est excrété principalement par les urines. Une part moindre est éliminée dans les fèces (Santé Canada, 1999).

L'élimination de Sb(III) est plus lente par rapport à celle de Sb(V) (OMS, 2003 ; Gebel, 1997).

L'antimoine n'est pas un élément essentiel dans l'organisme (OMS, 2003 ; Fowler et Goering, 1991).

B.3. Mécanismes d'action et effets sur la santé

L'antimoine est particulièrement toxique sous forme trivalente (Winship, 1987). La valeur réglementaire de 0,5 $\mu g/L$ dans l'eau a été établie à partir de résultats d'études relativement anciennes (Schroeder *et al.*, 1968 et 1970 ; Kanisawa et Schroeder, 1969).

Cependant, les méthodes ayant conduit à ce seuil sont fortement discutées. En effet, des études récentes proposent des valeurs différentes (NTP, 1992 ; Poon *et al.*, 1998).

Il est important de maintenir malgré tout un regard critique puisque les résultats récents présentent des contradictions.

L'objectif de la synthèse est de faire une critique des études menées sur le sujet afin de pointer les incohérences et justifier le besoin des évolutions à venir.

a. Toxicité aiguë

Etudes chez l'homme :

Les symptômes d'une intoxication aiguë à de l'antimoine sont caractérisés par des douleurs abdominales, des vomissements, des diarrhées, déshydratation, douleurs musculaires, hémoglobinurie et urémie.

La dose létale minimale par ingestion d'APT par voie orale est de 300 mg pour des enfants et 1200 mg pour des adultes (Wirth, 1994).

Etudes chez l'animal :

Les valeurs DL₅₀ par voie orale pour l'APT sont comprises entre 115 mg/kg pour des lapins et des rats jusqu'à 600 mg/kg pour des souris.

b. Toxicité à court terme

- **Effets gastrointestinaux**

Etudes chez l'animal :

L'ingestion par voie orale de Sb₂O₃ à 84 mg/kg/j pendant 32 jours a conduit à des diarrhées chez des chiens (Flemming, 1982).

Aucun effet gastrointestinal n'a été mis en évidence chez des rats après ingestion de Sb₂O₃ à 501 mg/kg/j pendant 20 jours (Flemming, 1982).

- **Effets hépatiques**

Aucune étude chez l'homme n'a mis en évidence cet effet (ATSDR, 1992).

Etudes chez l'animal :

Une tuméfaction du foie est observée pour une ingestion de 418 mg/kg/j de Sb₂O₃ (Sunagawa, 1981).

Aucun effet n'est observé à des concentrations plus faibles (Fleming, 1982 et Schroeder *et al.*, 1968).

D'après une étude réalisée par le NTP sur 14 jours, les doses tolérées par voie orale pour rats et souris sont respectivement de 168 et 273 mg d'antimoine par kg et par jour.

Des lésions du foie et de l'estomac sont mises en évidence pour des doses de 407 mg/kg/j (NTP, 1992).

Par contre, lors d'une administration par voie péritonéale pendant 16 jours, les lésions des tissus du foie et des reins sont observées pour les rats pour des doses plus faibles de 11 mg/kg/j.

L'importante différence de toxicité entre administration du contaminant par voie orale ou péritonéale est liée à l'absorption différentielle de l'APT.

- **Autres effets**

D'autres symptômes d'une gravité avérée sont observés au niveau du myocarde.

Etudes chez l'homme :

L'ingestion de sels d'antimoine par voie orale conduit à l'apparition d'altérations cardiaques (Elinder et Friberg, 1986).

Etudes chez l'animal :

L'administration d'une centaine de mg/kg d'antimoine par voie intrapéritonéale chez des cobayes et des rats conduit à un décès associé à une insuffisance myocardique (Santé Canada, 1999).

Les principaux organes et effets identifiés à court terme de l'antimoine sont des altérations du myocarde, vomissements, diarrhées, dégénérescence foie et rate et faiblesse musculaire (ATSDR, 1992).

b. Toxicité subchronique

b.1. Données disponibles

Les données disponibles sur la toxicité chronique de l'antimoine sont limitées par rapport à celles de l'arsenic.

Les principales études sont les suivantes :

- Schroeder *et al.* (1968) et Kanisawa et Schroeder, (1969)
- Schroeder *et al.* (1970)
- National Toxicological Program NTP (1992)
- Poon *et al.* (1998)
- Lynch *et al.* (1999)

L'objectif de la synthèse est de faire une critique des études subchroniques et chroniques menées sur le sujet et à partir desquelles ont été dérivées les valeurs de référence.

b.2. Toxicité subchronique et chronique

Une revue de la toxicité subchronique et chronique d'APT est réalisée par Lynch en 1999.

- **Diminution du poids et de la durée de vie**

Dans l'étude de Schroeder *et al.* (1968) et Kanisawa et Schroeder, (1969), des rats et des souris (55 mâles et 54 femelles) sont soumises à une ingestion d'eau contenant 5 mg/l soit 0,83 mg/kg/j d'APT.

Pendant la première année de traitements, aucun effet sur la croissance des souris n'est mis en évidence par contre, une diminution de poids est constatée.

Après 12 mois, une perte de poids est identifiée chez les femelles.

Après 18 mois, une perte de poids est identifiée chez les mâles.

Cependant, la perte de poids observée est faible et correspond seulement à 10 % de l'échantillon par rapport aux témoins.

Par ailleurs, aucun effet sur la longévité de souris n'est relevé à 0,35 mg/kg/j de tartrate d'antimoine de potassium (Kanisawa et Schroeder, 1969 ; Schroeder *et al.*, 1968).

Les incohérences suivantes sont pointées par Lynch *et al.* (1999) :

- pas de mesures hématologiques, clinique ou du poids des organes
- pas de détail sur les méthodes d'analyse des tissus
- concernant la perte de poids observée, l'analyse est difficile car aucune donnée de nutrition n'est précisée pendant la durée des expériences
- pas de baisse de poids significative
- pas de modification d'ordre pathologique ou de mortalité n'est recensée donc pas d'effet toxicologique significatif
- pas de modification histologique dans les organes analysés : cœur, poumons, foie, rein et rate (Schroeder *et al.*, 1968)

Dans l'étude de Schroeder *et al.* (1970), l'antimoine est administré sous forme d'APT par dose de 0 et 5 mg/l dans l'eau potable à des groupes de 50 rats Long-Evans, séparés mâles et femelles.

Les effets observés de l'APT sont une diminution de la durée de vie évaluée par l'âge pour 50 % de l'échantillon (805 jours pour les cas et 912 jours pour les témoins femelles).

L'absorption chronique à faibles doses de tartrate d'antimoine de potassium (0,262 mg/kg/j) entraîne une diminution de la durée de vie des rats (Schroeder *et al.*, 1970).

Par ailleurs, une augmentation du taux de cholestérol est observé chez les mâles alors que le résultat est inverse pour les femelles.

Les incohérences suivantes sont pointées par Lynch *et al.* (1999) :

Les essais animaux auraient du être menés sur une période maximale de 2 ans

- concernant la diminution de durée de vie, la différence n'est pas statistiquement significative
- pas d'analyse histopathologique réalisée
- concernant les mesures de cholestérol, les contrôles utilisés dans l'expérience de 1970 ne proviennent pas de la même génération mais des expériences de 1968.

L'utilisation de cette expérience est inadaptée.

Le NTP (1992) a réalisé une étude sur des groupes de 10 rats F344 et souris B6C3F1 par injection par voie intrapéritonéale de 0, 1,5, 3, 6, 12 et 24 mg/kg 3 fois par semaine.

Chez les rats, les effets observés sont une augmentation de la mortalité et une perte de poids. A 24 mg/kg/j, la perte de poids est de l'ordre de 18 % pour mâles et femelles. A 12 mg/kg/j, la perte de poids est de 8% chez les mâles uniquement.

Le niveau de dose sans effet observé (NOAEL) est de 3 mg/kg/j par voie intrapéritonéale et de 15 mg/kg/j par voie orale (NTP, 1992). Une sensibilité plus prononcée des mâles est mise en évidence.

Chez les souris, seule une réduction de poids de 10 % par rapport aux témoins est mise en évidence sans différence significative.

Dans l'étude réalisée par Poon *et al.* (1998), l'antimoine est administré sous forme d'APT par voie orale à des rats pendant 90 jours.

Les auteurs ont étudié l'exposition de rats Sprague-Dawley mâles et femelles à des sels d'antimoine trivalents solubles (tartrate double d'antimoine et de potassium). Les concentrations sont de 0,5 à 500 mg/L pendant 13 semaines. Les apports correspondants se situent entre 0,06 et 45 mg/kg/j, soit une dose absorbée entre 0,006 et 4,5 mg/kg/j en admettant une absorption intestinale de l'ordre de 10 %.

L'ensemble des rats a survécu et ne présente aucun signe clinique pendant le traitement.

Aux hautes doses, une diminution du poids corporel est constatée en association avec une baisse de 35 % de la consommation d'eau en comparaison aux témoins.

La mise en évidence de modifications des tissus de la thyroïde des rats mâles a conduit à définir une NOAEL de 0,06 mg/kg/j (Poon *et al.*, 1998).

Une baisse de poids est également constatée chez des chiens à 6, 644 mg/kg/j pdt 32 j (Fleming, 1982).

Les niveaux d'antimoine dans les tissus sont répartis de la façon décroissante suivante :

Globules rouges >> rate, foie >rein >cerveau, tissus adipeux >sérum.

Sur la base des changements histologiques, la dose sans effet nocif NOAEL déterminée est de 0,5 mg/l équivalente à un apport moyen de 0,06 mg/kg/j (Poon *et al.*, 1998).

Cependant, cette étude a été fortement discutée par Lynch *et al.* (1999). L'utilisation d'un phénomène réversible pour déterminer une NOAEL est discutable (Lynch, 1999 ; Valli, 2000). Par ailleurs, aucune des modifications histologiques de la thyroïde relevées par Poon n'ont été citées par l'étude NTP (1992).

L'équipe de Lynch (1999) propose une nouvelle valeur de NOAEL de 6 mg/kg/j correspondant à 50 mg/L d'antimoine déterminée à partir d'une diminution du poids et de l'appétit. La valeur associée à l'observation d'un effet (LOAEL) est égale à 60 mg/kg/j.

- Effets hépatiques

Dans l'étude réalisée par le National Toxicological Program (NTP, 1992), l'antimoine est administré sous la forme APT pendant 14 jours à un groupes de 5 rats et souris de chaque sexe.

Les doses sont de 150 à 2500 ppm soit 16, 28, 59, 94 et 168 mg/kg/j pour les rats et 59, 98, 174, 273 et 407 mg/kg/j pour les souris.

Il n'y a pas d'effet observé pour 168 et 273 mg/kg/j chez les rats et souris respectivement par voie orale pendant 14 jours.

Une autre expérience consiste à injecter de l'antimoine pendant 16 jours par voie intrapéritonéale.

Les doses sont de 0, 1.5, 3, 6, 11 et 22 mg/kg/j pour les rats et de 0, 6, 13, 25, 50 et 100 pour les souris.

Chez les rats, une augmentation de la mortalité et des lésions du foie et des reins sont observés aux plus fortes doses.

Chez les souris, une augmentation de la mortalité est constatée avec un décès systématique à 100 mg/kg/j.

Les analyses histopathologiques révèlent des lésions de type nécrose et inflammation du foie chez 5 mâles et 3 femelles à 50 mg/kg/j (NTP, 1992).

Les différences constatées sont liés au mode d'administration de la substance. Dans l'injection par voie péritonéale, l'absorption est de 100 % tandis que par voie orale, l'absorption est de 7 à 15 % (Dieter *et al.*, 1991 ; NTP, 1992 ; US-EPA, 1992).

Suite à ces résultats, le NTP réalise une étude sur des groupes de 10 rats F344 et souris B6C3F1 par injection par voie intrapéritonéale de 0, 1.5, 3, 6, 12 et 24 mg/kg 3 fois par semaine.

A des doses de 6 mg/kg/j pour les mâles et 12 mg/kg/j pour les femelles, des dégénérescences des cellules du foie et des nécroses sont observées en fonction de doses croissantes.

Des inflammations du foie sont observées à 1,5 et 3 mg/kg/j pour mâles et femelles respectivement.

La méthode et les explications de l'article de NTP (1992) permettent une utilisation fiable des résultats pour évaluer la toxicité de l'APT.

L'étude menée par voie intrapéritonéale sur 13 semaines ne met pas en évidence d'effets systémiques pour des doses inférieures ou égales à 3 mg/kg par voie intrapéritonéale soit 15 mg/kg équivalent par voie orale soit une concentration dans l'eau de 200 mg/l.

Dans l'étude réalisée par Poon *et al.* (1998), l'antimoine est administré sous forme d'APT par voie orale à des rats pendant 90 jours.

Les doses sont égales à 0-0,5-50-500 ppm soit 0,06 à 42,17 mg/kg/j pour les mâles et 0,06 à 45,69 mg/kg pour les femelles.

Les changements suivants ont été observés : modification de la thyroïde (réduction de la taille des follicules et augmentation de l'épithélium) et du foie ; réduction de la quantité de glucose et de cholestérol chez les femelles.

Le choix de l'utilisation de ces symptômes pour déterminer une dose sans effet observé de 0,5 mg/l soit 0,06 mg/kg/j est remis en cause par Lynch *et al.* (1999) pour les raisons suivantes :

- l'utilisation d'une réponse physiologique est inadaptée pour déterminer une NOAEL
- concernant les résultats au niveau de la thyroïde, les interprétations sont à nuancer étant donné le manque de données
- concernant les altérations du foie, aucune analyse statistique ne confirme la pertinence des résultats et l'existence d'une dose-réponse

La principale critique de Lynch *et al.* (1999) repose donc sur l'interprétation inadaptée de modifications histologiques qui ne sont réversibles et pas associées à un effet toxique. En effet, ces modifications n'ont pas été établies avec une relation dose-réponse significative et ont été retrouvées sur une part des témoins.

Aucun de ces effets n'a été identifié dans l'étude menée par NTP à des doses pourtant supérieures (1992).

- Effets hématologiques

Aucune étude chez l'homme n'a mis en évidence cet effet (ATSDR, 1992).

Chez l'animal :

Une diminution du nombre de globules rouges est constatée chez des rats pour une exposition à 418 mg/kg/j d'antimoine Sb₂O₃ pendant 24 semaines (Sunagawa, 1981)

De la même façon, une diminution des niveaux d'hémoglobines et des protéines plasmatiques chez des rats exposés à 500-1000 mg/kg/j pendant 12-24 semaines (Sunagawa, 1981 ; Hiraoka, 1986)

Le NTP (1992) réalise une étude sur des groupes de 10 rats F344 et souris B6C3F1 par injection par voie intrapéritonéale de 0, 1.5, 3, 6, 12 et 24 mg/kg 3 fois par semaine.

Des analyses hématologiques révèlent une diminution des globules rouges et de l'hémoglobine pour les souris mâles et femelles en semaines 7 et 13.

Pour les souris, la NOAEL est estimée à 12 mg/kg soit 60 mg/kg en équivalent pour la voie orale.

Des incertitudes persistent concernant la toxicité chronique de l'antimoine. Il semble pertinent d'utiliser la dose associée à la baisse de poids et à la perte d'appétit pour déterminer une dose sans effet observé (Lynch *et al.*, 1999).

L'analyse des expériences récentes conduit à proposer deux valeurs de doses sans effet observé : 2500 mg/L (NTP, 1992) et 50 mg/L (Poon *et al.*, 1998) d'antimoine dans l'eau potable.

Lynch *et al.* (1999) recommandent l'utilisation d'une NOAEL de 6 mg/kg/j correspondant à 50 mg/L d'antimoine dans l'eau potable (Poon *et al.*, 1998).

Les effets subchroniques et chroniques identifiés de l'antimoine sont : perte de poids, diminution de la durée de vie, nécroses du foie, diminution du nombre de globules rouges et réduction du taux de cholestérol.

b.3. Cancérogénicité et génotoxicité

Aucune étude chez l'homme n'a mis en évidence un effet cancérogène de l'antimoine (ATSDR, 1992). Seul l'antimoine trioxyde (ATO) est classé dans la catégorie 2B « cancérogènes possibles pour l'homme » (IARC, 1989).

Il n'y a pas de modification de l'incidence des cancers chez des rats et des souris exposés à 5 et 50 mg/l d'APT (Kanisawa et Schroeder, 1969, Schroeder *et al.*, 1970, Schroeder, 1968).

Par voie orale, la cancérogénicité de l'antimoine n'est pas démontrée (OMS, 2003, IARC, 1989). Il n'y a pas de conclusions possibles étant donné l'hétérogénéité des méthodes et protocoles expérimentaux (Lynch *et al.*, 1999).

La génotoxicité de l'antimoine Sb(III) est démontrée *in vitro* sur des cellules V79 hamsters et par tests du micronucléus et d'échanges de chromatides-sœurs. Le niveau de dose est de 5 µmol/l de Sb(III) dans des cellules de lymphocytes humains (OMS, 2003 ; Gebel, 1997 et 1998 ; Schaumlöffel et Gebel, 1998).

En résumé, l'antimoine est une substance dont la cancérogénicité pour l'homme n'est pas démontrée (ATSDR, 1992, IRIS, 1998). En revanche, son potentiel génotoxique (US-EPA, 1998), clastogène mais non mutagène est démontré (Gebel, 1997 et 1998, Schaumlöffel et Gebel, 1998). Cependant, de nombreuses incertitudes demeurent concernant les mécanismes d'action associés (Santé Canada, 1999 ; OMS, 2003).

B.4. Valeurs toxicologiques de référence

Valeurs toxicologiques de référence de l'antimoine

Source	VTR	Référence	Espèce	Effet
OMS (2003)	DJT = 6 µg/kg/j	Poon <i>et al.</i> , 1998	rat	Perte de poids
Santé Canada (1997)	DJT = 0,2 µg/kg/j	Poon <i>et al.</i> , 1998	rat	Perte de poids
OMS (1994)	DJT = 0,86 µg/kg/j	Schroeder <i>et al.</i> , 1970	rat	Baisse de longévité
ATSDR (1992)	Pas de MRL défini	-	-	-
US-EPA (1991)	RfD = 0,4 µg/kg/j	Schroeder <i>et al.</i> , 1970	rat	Baisse de longévité

B.5. Interrogations

Des incertitudes persistent concernant les points suivants :

- le taux d'absorption de l'antimoine dans l'organisme
- le mécanisme d'élimination de l'antimoine : quel est le processus ?
- les mécanismes de génotoxicité de l'antimoine
 - rôle du stress oxydant à démontrer
 - précisions à amener sur les mécanismes d'altération de la réparation de l'ADN : inhibition directe des enzymes ou via la production de composés oxydants ?

Cependant, en l'état actuel des connaissances, il semble que les risques sanitaires liés à l'antimoine soient moindres par rapport à l'arsenic pour deux raisons :

- caractère cancérogène non avéré
- distribution faible de l'antimoine dans l'environnement

PUBMED

Mixtures + risk + assessment : 583

Mixtures + health + risk : 332

Mixtures + water + risk + assessment : 149

Mixtures + water + health + risk : 55 thèmes mélanges, pesticides, PCBs, sous-produits de désinfection

Arsenic + antimony : 377 réponses

Arsenic + antimony + water: 51 réponses : thèmes sols, métrologie, eau, air

Arsenic +antimony + mixture : 5 réponses dont aucune réponse pertinente concernant la problématique « eau »

Arsenic + antimony + risk : 31 réponses : thèmes sols, métrologie, eau

Arsenic ++antimony + risk + water : 7 réponses dont 5 réponses pertinentes

SCOPUS

Arsenic + antimoine :

Mixtures + risk + assessment+ 2000-2007 : 756

Mixtures + health + risk : 969

Mixtures + water + risk + assessment : 302

Mixtures + water + health + risk : 153 thèmes mélanges, pesticides, PCBs, sous-produits de désinfection, techniques, chimie analytique

Arsenic + antimony : 2857 réponses

Arsenic + antimony + water: 366 réponses : thèmes sols, mines, eau, air, métrologie, matériaux

Arsenic +antimony + mixtures : 90 réponses dont aucune réponse pertinente concernant la problématique « eau »

Arsenic + antimony + risk : 63 réponses : thèmes sols, mines, métrologie, eau

Arsenic ++antimony + risk + water : 19 réponses dont 7 réponses pertinentes

Annexe 10 : thèmes de recherche (D'après AESA, 2007)

Les objectifs du colloque de l'AESA (février 2007) sont :

- mener une discussion sur les avantages et désavantages des approches actuelles
- mettre en évidence les besoins d'informations supplémentaires pour mener une ERS sur des composés ayant un mode d'action identique
- repérer les éléments scientifiques disponibles lorsque les substances n'ont pas un effet identique : réponse additive, synergie ou antagonisme
- discuter du choix des données et méthodes à utiliser en priorité pour évaluer un risque conjoint

Les thèmes abordés par les groupes de travail du colloque de l'EFSA :

- G1 : Evaluation du danger lié à une exposition à plusieurs substances
- G2 : Cas des effets non additifs
- G3 : Choix des données scientifiques pour une exposition conjointe
- G4 : Méthodologies

Les interrogations par thèmes sont les suivantes :

G1 : Evaluation du danger lié à une exposition à plusieurs substances

- Quels sont les critères permettant de regrouper les substances par un même mécanisme d'action ?
- Quelle méthode doit être utilisée pour évaluer le danger par la méthode du calcul TEF/PEF (toxicity/potency equivalency factors) ou de la marge d'exposition (Margin of exposure MOE ?)
- Quels sont les avantages et désavantages de ces méthodes ?
- Quel niveau (NOAEL, benchmark dose) doit être utilisé ?
- Quelles sont les données nécessaires au minimum pour inclure une substance dans ce type de démarche ? Et le cas échéant, sur quels autres critères justificatifs une substance peut elle être incluse ?

G2 : Cas des effets non additifs

- Quels sont les effets à décrire : additivité, synergie ?
- Comment identifier les groupes de composés ? Quelles hypothèses associées ?
- Quelles limites d'incertitudes doivent être acceptées au vu des hypothèses ?
- Quels protocoles expérimentaux sont estimés pertinents pour évaluer l'effet combiné de substances ? Critères de validité ?
- Quelles sont les méthodes pour évaluer le danger ? Avantages et inconvénients ?
- Quel est le minimum de données nécessaires pour inclure un composé dans ce type d'études ? Et le cas échéant, sur quels autres critères justificatifs une substance peut elle être incluse ?

G3 : Choix des données scientifiques pour une exposition conjointe

→ Scénarios

- Est-il nécessaire de faire une distinction entre évaluation d'une exposition actuelle et évaluation du niveau de protection sanitaire de Minimum Risk Levels (MRLs) ?
- Est-ce que les expositions aiguës et chroniques doivent être prises en compte pour chaque type d'évaluation ?

→ Données de consommation

- Sources d'information, types de données collectées
- Données caractéristiques de la population générale ou d'un groupe en particulier ?
- Incertitudes et variabilité ?

→ Données sur les substances

- Sources d'information, types de données collectées
- Critères de validité des méthodes ?
- Incertitudes et variabilité ?

G4 : Méthodologies

- Quelle méthode pour évaluer l'exposition des consommateurs ? (méthode déterministe ou probabiliste)
- Quels sont les critères pour évaluer une exposition conjointe ?
- Quelles sont les données nécessaires au modèle ?
- Incertitudes et variabilité ?
- Quels modèles ne sont pas valables ? Quels enseignements ?
- Est-ce que l'un des modèles est adapté ou une autre approche doit être développée ?

Summary

This research project performed at the French Food Safety Agency deals with the risk assessment of mixtures of chemical products present in drinking water. Actual limit values are established at this moment without taking into consideration interactions between chemical products.

The aims of this work are to underline the specificities of current risk assessment procedures and to propose an approach adapted to the drinking water area.

International reference guidelines for risk assessment have been collected and have been applied to a particular chemical mixture-couple (arsenic/antimony) as an example.

The analysis of the current procedures points out the lack of relevant toxicological studies on mixtures and the difficulties in the interpretation of risk assessment results. The use of a particular approach depends on the nature and quality of the data. The component-based procedures, particularly those that take into account information on interactions, are most advanced for non carcinogenic effects.

Recommendations are proposed to be incorporated in the context of the work of the working-group.

In the drinking water area, the first step is the selection of the couples of concern with regards to the population exposure and the data availability.

An essential second step is the identification of individual and joint toxicological actions and the understanding of the mechanisms of action of the couples in order to select a risk assessment method.

The chemical mixtures belong to an area of active scientific investigation. As new studies relevant to health risk becomes available, additional procedures will be recommended. The risk assessments of mixtures are intended to assist decision makers.