

**Seuil de préoccupation toxicologique
pour l'analyse de risque sanitaire
des substances chimiques dans les aliments**

Coordination éditoriale/rédactionnelle

Michel JOYEUX, EPHE
Fernando Aguilar, AFSSA

Coordination scientifique

Fernando Aguilar, AFSSA

Validations du rapport

Ce rapport a fait l'objet d'une validation de la part des Comités d'experts spécialisés (CES) suivants :
CES Additifs, arômes et auxiliaires technologiques,
CES Matériaux au contact des aliments
CES Eaux

Le *CES Résidus et contaminants chimiques et physiques* a émis des réserves quant à l'application possible du principe de seuil de préoccupation toxicologique pour l'évaluation du risque alimentaire lié aux résidus et contaminants de sa compétence. Ces réserves sont reproduites *in extenso* dans ce rapport (pages 36 & 40).

Sommaire

COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL	4
DEFINITIONS	6
RESUME	8
INTRODUCTION	9
OBJECTIFS DU GROUPE DE TRAVAIL	13
1 LE SEUIL DE PREOCCUPATION TOXICOLOGIQUE 15 BASES SCIENTIFIQUES ET HYPOTHESES SOUS-JACENTES	15
1.1 Problématique	15
1.2 Définition du niveau de sécurité sanitaire	16
1.2.1 Dose journalière admissible (DJA)	16
1.2.2 Niveau de risque acceptable	16
1.2.3 Arbre de décision	17
1.3 Considérations liées à la relation structure-activité	17
1.4 Mode d'élaboration du seuil de préoccupation toxicologique	18
1.4.1 Composés à effet déterministe	18
1.4.1.1 Immunotoxicité	20
1.4.1.2 Toxicité sur la reproduction	20
1.4.1.3 Neurotoxicité	20
1.4.1.4 Toxicité endocrine	21
1.4.1.5 Allergénicité	22
1.4.2 Composés à effet stochastique	22
2. CONSIDERATIONS D'EXPOSITION	26
2.1 Les additifs alimentaires	26
2.2 Les matériaux au contact des denrées alimentaires	27
2.3 Les arômes	27
2.4 Autres méthodes globales de calcul d'exposition proposées dans d'autres contextes	28
3. DISCUSSION	29
3.1 Position des Comités d'experts spécialisés « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques », « Matériaux au contact des aliments » et « Eau »	29
3.1.1 Pertinence du concept	29
3.1.2 Limites du concept	29
3.1.3 Les structures d'alerte	30
3.1.4 L'estimation de l'exposition	31
3.2 Position du Comité d'experts spécialisé « Résidus et contaminants chimiques et physiques »	32
4. CONCLUSIONS	35
4.1 Comités d'experts spécialisés « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques », « Matériaux au contact des aliments » et « Eau »	35
4.2 Comité d'experts spécialisé « Résidus et contaminants chimiques et physiques »	36
5. PROPOSITIONS D'APPLICATION	37
5.1 Cas des arômes alimentaires	37
5.2 Cas des auxiliaires technologiques	37
5.3 Cas des additifs alimentaires	40
5.4 Cas des emballages alimentaires	40
5.4.1 Matériaux au contact d'aliments et boissons	40
5.4.2 Matériaux au contact de l'eau	41
6. BIBLIOGRAPHIE	43

Composition du groupe de travail

Président :

M le professeur Georges DE SAINT BLANQUAT
Département universitaire des sciences d'Agen
Université Bordeaux I, Agen
Membre du Comité d'experts spécialisé (CES) Additifs,
arômes et auxiliaires technologiques (AAAT)

Membres du groupe de travail :

M le professeur François ARSAC
Laboratoire de toxicologie des métaux
UFR Pharmacie, Université de Reims Champagne Ardenne
Membre du CES AAAT

M Paul CHAMBON
Laboratoire Santé, Environnement, Hygiène de Lyon
Membre du CES Eaux

M Henri HOELLINGER
Direction de la technologie
Ministère de la jeunesse, de l'éducation nationale et de la
recherche. Paris
Membre du CES AAAT

M Michel JOYEUX
Laboratoire d'hydroclimatologie médicale
Ecole pratique des hautes études
Faculté de médecine, Vandoeuvre les Nancy
Membre du CES Eaux

M Dominique LAFON
INRS, Paris
Membre du CES Matériaux au contact des aliments (MCDA)

M Michel LAURENTIE
Unité de pharmacologie-pharmacodynamie
Laboratoire d'études et de recherche sur les médicaments
vétérinaires et les désinfectants
Afssa – Site de Fougères
Membre du CES AAAT

M le professeur Jean-Claude LHUGUENOT
Département de biochimie et toxicologie alimentaire
ENSBANA, Dijon
Membre du CES MCDA

Mme Annick PICHARD
INERIS, Verneuil-en-Halatte
Membre du CES Résidus et contaminants chimiques et
physiques

M Jean-Michel POUL
Unité toxicologie alimentaire
Laboratoire d'études et de recherche sur les médicaments
vétérinaires et les désinfectants
Afssa – Site de Fougères
Membre du CES AAAT

M Jean-François REGNIER
ATOFINA
Membre du CES MCDA

Membres de l'Afssa :

M Jean-Luc VOLATIER
Unité Observatoire des consommations alimentaires

M Fernando AGUILAR
Unité d'Evaluation des risques physico-chimiques

Définitions

Analyse de risques

Processus comportant trois volets : évaluation et gestion des risques et communication des données correspondantes.

Apport journalier maximal théorique (AJMT)

Est une prévision de l'apport maximum journalier, faite en supposant que les concentrations de la substance sont égales à la teneur réglementaire maximale autorisée, et que la consommation journalière moyenne d'aliments par personne est de 25 g d'aliments solides par kilogramme de poids corporel et de 100 ml d'aliments liquides (lait non compris) par kilogramme de poids corporel. Généralement elle est exprimée en milligrammes de substance par personne.

Dose journalière admissible (DJA)

L'estimation de la dose présente dans les aliments ou l'eau de boisson, exprimée en fonction du poids corporel, qui peut être ingérée tous les jours pendant toute la vie, sans risque appréciable pour la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel.

Dose journalière tolérable (DJT)

L'estimation de la dose présente dans les aliments ou l'eau de boisson, exprimée en fonction du poids corporel, qu'il est toléré d'être ingérée tous les jours pendant toute la vie, sans risque appréciable pour la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Généralement elle est réservée aux contaminants et est exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel.

Dose sans effet observé (DSEO)

Dose maximale d'une substance qui, lors d'études expérimentales sur l'animal, s'est avérée ne pas causer d'effets observables (altération morphologique, capacité fonctionnelle, croissance, développement, durée de vie de l'animal). Généralement elle est exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel et par jour.

Dose sans effet indésirable observé (DSEIO)

Dose maximale d'une substance qui, lors d'études expérimentales sur l'animal, s'est avérée ne pas causer d'effets toxiques détectables. Généralement elle est exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel et par jour.

Dose minimal ayant un effet observé (DMEO)

Dose minimale testée d'une substance qui, lors d'études expérimentales sur l'animal, s'est avérée causer d'effets observables (altération morphologique, capacité fonctionnelle, croissance, développement, durée de vie de l'animal). Généralement elle est exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel et par jour.

Evaluation des risques

Processus scientifique comportant les étapes suivantes : a) identification des dangers, b) caractérisation des dangers, c) évaluation de l'exposition et d) caractérisation des risques.

Effet

Dans le contexte de ce rapport, on entend par effet un changement biologique dans l'organisme, dans un organe ou dans un tissu biologique.

Effet déterministe

Un effet pour lequel il est possible de définir un seuil d'exposition en deçà duquel l'effet biologique n'est plus observé.

Effet probabiliste ou stochastique

Un effet pour lequel on considère qu'il n'est pas possible de définir un seuil d'exposition en deçà duquel l'effet biologique n'est plus observé.

Gestion des risques

Processus consistant à mettre en balance les différentes politiques possibles, compte tenu des résultats de l'évaluation des risques et, le cas échéant, à choisir et mettre en œuvre des mesures de contrôle appropriées, y compris des mesures réglementaires.

Résumé

Le seuil de préoccupation toxicologique correspond à une dose journalière d'exposition à certaines catégories de substances en deçà de laquelle un ensemble d'investigations toxicologiques ne serait pas obligatoirement demandé dans un cadre réglementaire. Il s'agit en quelque sorte d'un outil de « screening » utilisé pour des substances présentant une similitude structurale avec une substance évaluée. Cet outil correspond à une approche probabiliste dont l'application n'est envisageable que dans le cas de substances chimiques présentes à très faibles concentrations et pour lesquelles les données toxicologiques spécifiques s'avèreraient insuffisantes pour conduire une évaluation toxicologique classique.

Actuellement, plusieurs instances communautaires et internationales appliquent cette approche pour l'évaluation des substances chimiques présentes dans l'alimentation à de faibles concentrations (ex. JECFA, US FDA).

Les modalités de fixation du seuil de préoccupation toxicologique diffèrent selon que l'on traite les composés à effet déterministe ou à effet stochastique. Toutefois, dans les deux cas et après une analyse de plusieurs centaines de molécules, il s'avère qu'une exposition inférieure ou égale à 1,5 µg par personne et par jour pourrait correspondre à un risque sanitaire non prioritaire en matière d'évaluation dès lors que la substance considérée n'est pas cancérigène génotoxique. La valeur de 1,5 µg par personne et par jour, proposée comme un seuil de préoccupation toxicologique, provient d'une décision pratique de gestion des risques associée à un calcul de risque cancérigène intégrant les substances nouvelles de toxicité inconnue¹.

Il convient de souligner toutefois qu'un niveau d'exposition à une substance ou une catégorie de substances qui ne dépasserait pas la valeur de 1,5 µg par personne et par jour ne doit pas être interprété comme une autorisation d'emploi de ces substances dans l'alimentation.

Les experts des Comités spécialisés « Additifs arômes et auxiliaires technologiques », « Matériaux au contact des aliments » et « Eau » ont considéré que les fondements scientifiques sur lesquels un seuil de préoccupation toxicologique a été défini sont valides et acceptables.

Les experts du Comité spécialisé « Contaminants » ont émis des réserves sur les possibilités d'application de cet outil pour l'évaluation du risque alimentaire lié aux résidus et contaminants relevant de sa compétence (voir pages 36 & 40).

Des exemples d'application du seuil de préoccupation toxicologique sont proposés dans les domaines des arômes, auxiliaires technologiques ainsi que des matériaux au contact des eaux et matériaux au contact des denrées alimentaires.

¹ Ces travaux ont montré qu'une consommation de 1,5 µg par personne par jour d'une substance chimique aurait 63% de chances de ne pas induire un dépassement de risque supplémentaire de 1 cancer sur 1 million d'individus si l'on présume que 100% de toutes les substances nouvelles de toxicité inconnue auxquelles la population pourrait être exposée s'avèraient manifestement cancérigènes.

Introduction

1.1. Contexte

L'évaluation des risques liés aux substances chimiques pouvant se trouver dans les aliments, prend en compte les résultats d'études toxicologiques réalisées chez l'animal afin d'établir une dose journalière ou hebdomadaire, admissible ou tolérable pour l'homme. Cette méthodologie d'évaluation fondée sur des données expérimentales s'est avérée efficace pour protéger la santé du consommateur en particulier lorsqu'elle est appliquée aux substances chimiques produites et consommées en quantités élevées. Cependant, elle reste relativement inadaptée pour répondre au besoin motivé par les demandes des consommateurs et des organismes de gestion, d'évaluer ou de réévaluer un nombre croissant de substances présentes dans les aliments ou susceptibles de l'être.

L'évolution des connaissances dans les domaines de la toxicologie, notamment des mécanismes de cancérogenèse, des relations structure-activité ainsi qu'une approche plus précise dans le calcul de l'exposition des consommateurs sous tendent de nouveaux développements dans l'évaluation des risques en particulier pour les substances présentes à très faibles concentrations dans les aliments.

L'établissement de listes de substances prioritaires pour l'évaluation de risques en fonction du niveau d'exposition et de toxicité attendue, se situe à la frontière entre l'évaluation des risques et la gestion des ressources scientifiques disponibles. Le développement de telles listes a été motivé par la nécessité de consacrer les ressources disponibles à l'évaluation sanitaire des substances qui en ont le plus besoin, c'est à dire celles auxquelles le consommateur serait le plus exposé ou pour lesquelles existerait une population particulièrement sensible. Ce type d'évaluation fait appel à l'application d'arbres de décision qui incorporent, entre autres données scientifiques, des niveaux d'exposition.

L'application d'arbres de décisions pour l'évaluation des substances chimiques, s'inscrit dans une démarche pragmatique. Le recours à un tel outil d'évaluation, qui peut inclure dans des conditions particulières, l'utilisation d'un seuil de préoccupation toxicologique, doit être compris comme faisant partie d'une démarche globale d'évaluation, qui intègre entre autres aspects, les résultats d'études toxicologiques réalisées avec des substances présentant des similitudes structurales et qui sont donc susceptibles d'induire des effets similaires.

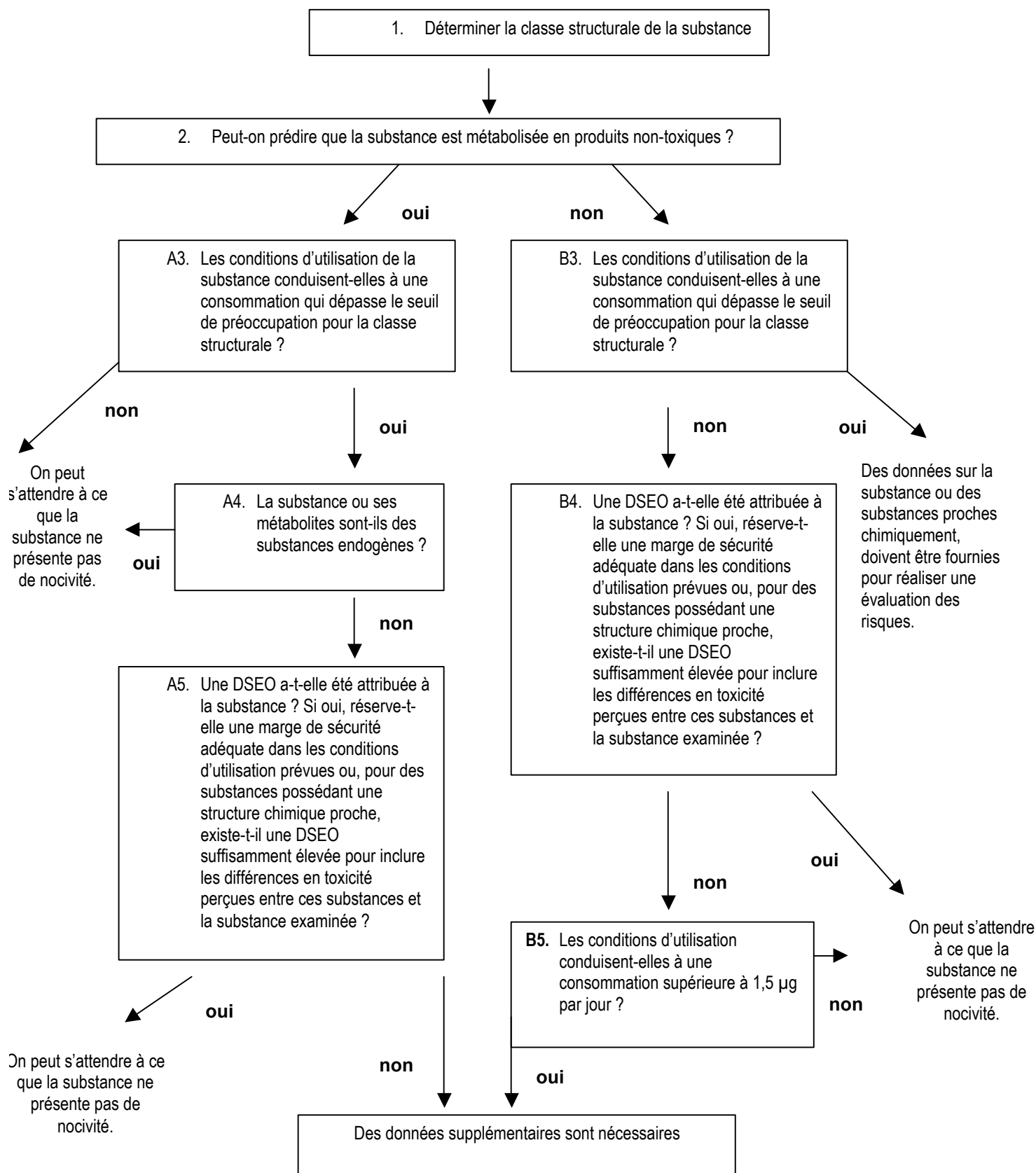
Actuellement plusieurs instances nationales et internationales appliquent une approche qui s'appuie sur ces concepts en vue d'évaluer des substances chimiques présentes dans les aliments à faibles concentrations, notamment, le JECFA² et la US FDA³. La Commission européenne prévoit, dans le cadre de l'adoption d'une procédure communautaire d'évaluation des substances aromatisantes utilisées ou destinées à être utilisées dans ou sur les denrées alimentaires (39), de réévaluer les arômes alimentaires en appliquant la procédure d'arbre de décision développée par le JECFA, mais en excluant l'application d'un seuil de préoccupation toxicologique, étape B5 prévue dans la procédure du JECFA (Figure I).

² Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

³ Food and Drug Administration des Etats-Unis

Figure 1 : Procédure pour l'évaluation des arômes employée par le JECFA

Traduite de
(31)



Toutefois, dans le cadre du programme d'harmonisation des procédures d'évaluation des comités scientifiques européens, il a été proposé l'introduction progressive d'une approche probabiliste pour l'évaluation du risque tout comme la nécessité de décider d'adopter ou pas des seuils de préoccupation toxicologique et ecotoxicologique, dans le cadre d'un schéma d'évaluation de risques par étapes (arbres de décision) (46).

S'agissant des arômes alimentaires, le JECFA et l'Autorité européenne de sécurité sanitaire (AESA) utilisent un arbre d'évaluation toxicologique qui prévoit, en fonction des réponses à une succession de questions d'ordres structural et toxicologique, de porter une appréciation scientifique quant aux niveaux de risques liés à leur consommation (Figure1) (39), (50), (51),(52), (53), (54). Les questions prévues dans cet arbre de décision doivent pouvoir répondre aux interrogations suivantes : (a) est-il prévisible que le métabolisme de la substance puisse conduire à la formation de produits toxiques ?; (b) dans les conditions d'utilisation prévues, la consommation de la substance dépasse-t-elle les seuils de préoccupation correspondant à sa classe structurale ? (voir le chapitre Définition du niveau de sécurité sanitaire) et (c) une dose sans effet observé (DSEO) a-t-elle été attribuée à la substance examinée ou à des substances possédant une structure analogue ? Dans le cas où les réponses à toutes ces questions seraient négatives, l'arbre d'évaluation utilisé par le JECFA prévoit l'introduction d'un seuil de préoccupation toxicologique à 1,5 µg par personne en considérant qu'une consommation quotidienne inférieure à ce seuil ne présente pas de nocivité (53). L'AESA de son côté n'applique pas pour le moment cette dernière étape de décision. Il faut souligner que cette procédure d'évaluation est appliquée aux substances aromatisantes pour lesquelles le niveau d'exposition est très faible et les données métaboliques et toxicologiques incomplètes. Cette procédure prévoit aussi de prendre en compte les données toxicologiques disponibles sur des substances qui présentent une similitude structurale avec la substance évaluée. Si les conditions d'utilisation conduisent à une exposition qui dépasserait soit le seuil de préoccupation pour la classe structurale soit le seuil de préoccupation toxicologique, il est prévu que des données complémentaires (études toxicologiques *in vitro*, études toxicologiques à long terme, de cancérogenèse, de reproduction, etc.) puissent être requises afin de compléter l'évaluation des risques de la substance en question.

S'agissant des additifs alimentaires, la US FDA utilise un arbre d'évaluation qui aboutit à définir la nature des dossiers toxicologiques exigés pour réaliser une évaluation des risques. Cet arbre d'évaluation prévoit de classer les additifs alimentaires selon trois niveaux de précaution (concern labels) en fonction de trois seuils d'exposition. Ainsi, un additif peut être classé dans l'une des trois catégories suivantes: Catégorie A, les additifs pour lesquels le potentiel toxique est considéré comme faible ; Catégorie B, les additifs intermédiaires entre les catégories A et C ; et Catégorie C, les additifs pour lesquels le potentiel toxique est considéré comme élevé. L'exposition est ensuite estimée et conduit, à l'intérieur de chacune de ces catégories, à l'assignation d'un niveau de précaution (I, II ou III). Enfin, un degré d'exigences toxicologiques croissant est exigé à chacun de ces niveaux de précaution (III > II > I).

Ainsi, un niveau de préoccupation est établi pour l'effet toxique de la substance en fonction du dépassement des niveaux de précaution provoqué par l'exposition provenant de son utilisation en tant qu'additif alimentaire (12). S'agissant des matériaux au contact des aliments, la US FDA va encore plus loin dans l'application d'un arbre d'évaluation en incluant une notion de seuil de réglementation. En effet, la US FDA accepte l'utilisation d'une substance en tant que composant des matériaux au contact des denrées alimentaires si les conditions suivantes sont satisfaites : (a) la substance n'est pas cancérogène pour l'homme ou les animaux ou si sa structure chimique ne comporte pas de motifs d'alerte la faisant suspecter d'être cancérogène ; (b) les usages de la substance permettent de prévoir que l'exposition du consommateur restera inférieure à 1,5 µg/personne/jour (seuil de régulation) ; (c) la substance étant acceptée en tant qu'additif alimentaire, la consommation provenant de sa présence dans les matériaux au contact des denrées alimentaires reste inférieure à 1 % de sa dose journalière admissible (DJA, voir plus bas) ; (d) la substance n'a pas d'effet technique sur l'aliment ; et (e) la substance n'a pas d'impact significatif sur l'environnement (14).

Au niveau français, le CSHPF⁴ définit l'étendue des dossiers pour l'évaluation des substances chimiques provenant des matériaux au contact des denrées alimentaires en fonction des niveaux d'exposition théoriques (Tableau I). Cette classification dispense d'études toxicologiques une substance lorsque son niveau d'exposition calculé est inférieur à 0,5 µg par personne par jour et dans le cas où la preuve théorique, par l'application d'un modèle « structure-activité », de l'absence de potentiel cancérogène aurait été apportée (3). Cette notion peut donc être rapprochée de celle d'un seuil toxicologique tel qu'il est utilisé par la US FDA.

⁴ Conseil supérieur d'hygiène publique de France

Tableau I : Données toxicologiques requises pour l'évaluation des composants des matériaux au contact des denrées alimentaires d'après l'avis émis par le CSHPF le 28 février 1998 (3).

En fonction du niveau d'exposition théorique (NET) ^a	Dossier toxicologique exigé
>5 000 µg/personne/ jour	un dossier de base complet ^b
50-5 000 µg/personne/ jour	un dossier de base réduit ^c
0,5-50 µg/personne/ jour	dossier réduit ^d
<0,5 µg/personne/ jour	dossier réduit ^e

^a voir chapitre Exposition.

^b dossier toxicologique de base complet : étude de toxicité subchronique sur 90 jours par voie orale, avec réversibilité ; deux études de génotoxicité, dans le cas où l'un de ces tests ne serait pas clairement négatif, le dossier doit inclure un troisième test ayant vocation à infirmer ou à confirmer le précédent ; étude sur l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion ; étude sur la reproduction ; étude de toxicité sur le développement ; étude de toxicité à long terme visant à caractériser, entre autres, le pouvoir cancérogène de la molécule ; si des données existent concernant la sensibilisation, l'irritation oculaire et cutanée, la toxicité par voie respiratoire, leurs résultats doivent être communiqués ainsi que toute observation relevée sur l'état de santé des personnes exposées à la molécule ; la substance testée doit avoir des spécifications identiques à celles mentionnées dans la partie concernant les renseignements physico-chimiques ; si les études mentionnées ci-dessus ou si la littérature scientifique disponible indiquent qu'un autre type de toxicité est possible, des études complémentaires peuvent être demandées.

^c dossier toxicologique de base réduit : étude de toxicité subchronique sur 90 jours par voie orale, avec réversibilité ; des données telles que le coefficient de partage octanol/eau permettant d'évaluer le potentiel de bio accumulation ; études démontrant l'absence de potentiel génotoxique.

^d au minimum les études démontrant l'absence de potentiel de génotoxique.

^e les pétitionnaires qui peuvent fournir les éléments caractérisant l'absence de potentiel cancérogène selon un modèle de relation structure-activité reconnu sont dispensés des études démontrant l'absence de potentiel génotoxique.

Objectifs du groupe de travail

Dans le contexte national et international d'application de concepts de seuil d'exposition, de seuil de préoccupation toxicologique et de seuil de migration lors de l'évaluation des substances chimiques présentes à faibles concentrations dans les aliments, l'Afssa a décidé de créer un groupe de travail relatif au seuil de préoccupation toxicologique (SEPT): a) afin de faire le bilan sur l'utilisation qui en est faite dans les diverses instances d'évaluation européenne et internationale ; b) faire le point sur les connaissances scientifiques et les hypothèses qui ont conduit à établir un seuil de préoccupation toxicologique et c) à préciser les domaines d'évaluation sanitaire définis dans les missions de l'Afssa pour lesquels il serait envisageable d'appliquer ce type d'évaluation, en indiquant également les limites de son utilisation.

1 Le seuil de préoccupation toxicologique

Bases scientifiques et hypothèses sous-jacentes

1.1 Problématique

Le concept de seuil de préoccupation toxicologique, évoqué il y a déjà plus de 30 ans par Frawley Docket N° 77P-0122 & 92N-0181.

(15) suscite actuellement un intérêt croissant en toxicologie et plus particulièrement en toxicologie alimentaire.

Il a été estimé que le nombre de substances auxquelles l'homme était ainsi exposé, était inversement proportionnel au logarithme de leur concentration dans les aliments (Figure II). En effet, parmi le très grand nombre de substances apportées par voie alimentaire, seule une faible proportion d'entre elles apparaît en quantité importante dans la ration alimentaire. En revanche, les substances représentant une part faible, voire très faible, de cette ration sont très nombreuses (Tableau II).

Consommation annuelle
par habitant

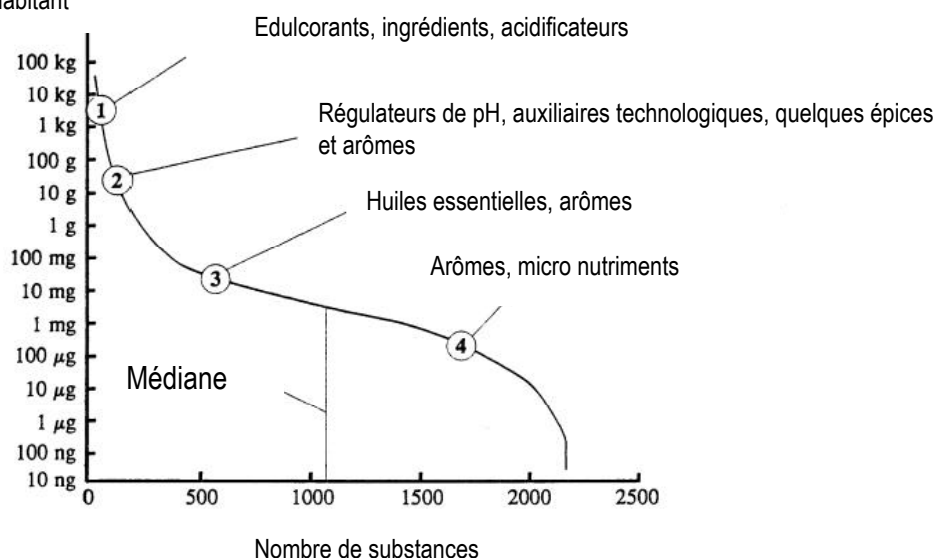


Figure II : Classement de substances présentes dans les aliments en fonction de leur consommation annuelle par habitant. Adapté de (32).

Tableau II. Répartition des arômes ^a alimentaires en fonction de leur consommation
Adapté de (32).

Intervalles de consommation ^b (µg/jour)	N d'arômes	Fréquence cumulative (% du total)
< 0,01	349	26
0,01-0,1	93	33
0,1-1	274	54
1-10	224	71
10-100	204	86
100-1 000	111	95
1 000-10 000	45	98
10 000-100 000	16	99
> 100 000	7	100
Total	1 323	

^a Exclues les herbes aromatiques

^b Consommation calculée en assumant que : l'étude reflète 60% de l'utilisation réelle, 10% de la population est exposée, la population des Etats-Unis en 1987 était de 240 millions. Formule : Consommation (g/personne/jour)=[(utilisation annuelle de l'arôme en g) (0,6)] (24 x 10⁶ personne x 365 jours). Etude de consommation NAS/NRC de 1987.

Jusqu'à présent, l'approche toxicologique conventionnelle fait que chaque substance est considérée de manière identique quel que soit le niveau d'exposition qu'elle engendre. Il s'agit pour chaque composé de déterminer le danger intrinsèque à l'aide d'un certain nombre d'études adaptées, ce qui est consommateur à la fois de temps et d'argent et peut paraître peu pertinent pour des composés rencontrés de manière exceptionnelle.

Depuis les travaux de Frawley (15), plusieurs éléments ont permis de faire évoluer cette notion d'évaluation systématique vers la notion plus pragmatique de seuil de préoccupation toxicologique qui se situe à la frontière de l'évaluation du risque et de la gestion du risque ; on peut principalement citer ; (a) la promotion par la NAS⁵ dès le début des années 80 de la démarche d'évaluation des risques qui a conduit, in fine, à une approche probabiliste de certains risques toxicologiques et surtout à une meilleure prise en compte du niveau d'exposition des populations ; (b) le développement de certaines bases de données toxicologiques qui sont aujourd'hui suffisantes pour que cette approche puisse être réalisée sur des bases scientifiques raisonnablement acceptables ; et (c) des contraintes économiques, de temps et éthiques en rapport avec l'utilisation d'animaux de laboratoire.

Le seuil de préoccupation toxicologique correspond à la notion de « de minimis requirement » de la US FDA c'est à dire à une dose journalière d'exposition en deçà de laquelle un ensemble d'investigations toxicologiques ne serait pas obligatoirement demandé dans un cadre réglementaire, pour certaines catégories de substances.

Avant d'aborder les hypothèses propres à la fixation d'un seuil de préoccupation toxicologique, deux notions préliminaires doivent être rapidement évoquées :

- L'approche classiquement utilisée en toxicologie pour définir un niveau dit de « sécurité sanitaire »
- Le concept d'arbre de décision utilisé en toxicologie alimentaire.

1.2 Définition du niveau de sécurité sanitaire

L'approche diffère selon la nature de l'effet indésirable induit par la substance considérée. On parle de composé à effet déterministe lorsque qu'il est possible de définir un seuil en deçà duquel aucun effet biologique n'est observé. Dans ce cas, il est possible de définir une dose journalière admissible ou tolérable. En revanche, pour certains composés, on considère qu'il n'est pas possible, a priori, de définir une dose sans effet. L'effet est alors dit probabiliste ou stochastique, c'est le cas des cancérogènes génotoxiques, pour lesquels les gestionnaires des risques vont définir les niveaux de risque acceptables ou tolérables.

1.2.1 Dose journalière admissible (DJA)

La DJA exprimée en milligramme par kilogramme de poids corporel est l'estimation de la dose présente dans les aliments ou l'eau de boisson, exprimée en fonction du poids corporel, qui peut être ingérée tous les jours pendant toute la vie, sans risque appréciable pour la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation.

Généralement, cette DJA est obtenue à partir d'études à long terme chez l'animal, au cours desquelles on détermine la DSEIO⁶. Cette valeur se verra ensuite affectée d'un facteur de sécurité, tenant compte à la fois des variabilités inter et intra espèces et de la qualité des expérimentations, pour aboutir à la DJA applicable à l'homme. Ce facteur de sécurité est généralement de 100. Il est important de souligner que la DJA ne représente pas un seuil de toxicité mais un niveau d'exposition jugé sans risque pour le consommateur pendant toute la durée de sa vie.

1.2.2 Niveau de risque acceptable

Pour les substances considérées comme n'ayant pas de seuil d'effet, la démarche utilisée est basée sur une modélisation mathématique dont le but est d'extrapoler les résultats obtenus expérimentalement à doses élevées vers des doses faibles. On considère, dans cette approche, que toute exposition, même la plus minime, se traduit par un excès de risque. Un modèle mathématique permet de calculer la dose d'exposition qui correspond à un niveau de risque préalablement défini

⁵ National Academy of Sciences des Etats-Unis, <http://www.nas.edu/>

⁶ dose sans effet indésirable observé ou NOAEL, No observed adverse effect level pour les Anglo-Saxons.

comme acceptable (généralement situé entre 10^{-4} et 10^{-6}). L'acceptabilité d'un risque est définie par les gestionnaires du risque sur le fondement des résultats d'évaluations de risques et en prenant en compte d'autres critères tels qu'économiques, législatifs, culturels, et autres.

1.2.3 Arbre de décision

La notion d'arbre de décision recouvre en fait une démarche proposée initialement par Oser et Hall (36) puis complétée par Cramer, Ford et Hall en 1978 (9). Elle consiste à classer un composé de toxicité non connue en répondant à une série de questions, 33 au total, qui portent sur sa structure chimique. La progression au sein de cet arbre de décision se faisant en fonction de la nature de la réponse (oui ou non) jusqu'à un niveau (une branche) qui permet, sous l'hypothèse d'une relation entre la structure et la toxicité orale, de classer les composés en trois classes.

La classe I regroupe les substances dont la structure suggère un faible niveau de toxicité orale. Si de plus l'exposition est faible, le niveau de priorité pour des investigations toxicologiques est faible. Si l'exposition est forte le niveau de priorité sera proportionnel à celle-ci.

La classe III regroupe les substances pour lesquelles la structure suggère une faible présomption de non-toxicité voire une toxicité possible. Le niveau de priorité pour des investigations toxicologiques est donc fort, d'autant plus que l'exposition est préjugée importante.

La classe II est une classe intermédiaire.

Pour les auteurs, il est possible à l'aide de cette démarche de dégager pour chaque classe et en tenant compte de l'exposition potentielle, des niveaux de priorité quant à la nécessité et à l'urgence de recueillir des données toxicologiques documentées. Pour chacune des classes, ils recherchent la plus faible DSEO, puis appliquent un facteur d'incertitude de 100 pour obtenir un niveau de sécurité spécifique pour l'homme. Ils proposent également de calculer un index de protection (IP)⁷ permettant de définir des niveaux de priorité pour les investigations toxicologiques, allant de A (faible) à D (études toxicologiques chroniques obligatoires). Pour confirmer leur démarche, les auteurs rapportent l'évaluation au travers de cet arbre de décision de plusieurs types de substances, dont 247 carcinogènes reconnus (9). Tous les carcinogènes testés sont classés en catégorie III, à l'unique exception de la xanthine, qui à fortes doses peut être cancérigène, mais qui est en même temps un métabolite de la dégradation normale des purines et en conséquence un constituant endogène des tissus humains et animaux. En outre, les auteurs présentent les résultats obtenus à l'issue d'une classification par arbre de décision des 81 substances chimiques dont des additifs alimentaires, des médicaments, des produits chimiques industriels et des pesticides (9). Cette évaluation a abouti à classer tous les composés non-toxiques dans la classe I alors que tous ceux hautement toxiques sortent classés dans la classe III.

1.3 Considérations liées à la relation structure-activité

L'application d'un arbre de décision à des fins de classification de substances dans une classe structurale présentant des activités similaires, repose sur le postulat que l'effet toxique d'un composé ou de sa forme activée est la conséquence des interactions chimiques et physiques qu'il peut avoir avec la cible critique. Il est donc raisonnable de prévoir que la structure chimique d'une molécule et les propriétés physico-chimiques qui lui sont associées jouent un rôle important dans la détermination de sa toxicité.

L'étude des relations structure-activité d'une substance, fait essentiellement appel à deux modèles, le Structure-Activity Relationship (SAR) et le Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR). Ces modèles qui sont employés actuellement dans l'étude des régions critiques (motifs d'alerte) impliquées dans l'activité biologique et toxique des molécules chimiques ainsi que dans l'identification de nouvelles molécules possédant des propriétés recherchées, ont recours à des « descripteurs » et à des méthodes statistiques.

La modélisation par SAR se fonde sur la connaissance acquise sur les activités des substances chimiques isolées ou des groupes des substances chimiques possédant des structures semblables et de la prise en compte des mécanismes d'action chimiques ou biologiques connus, qui ont été associés à ces substances (7). Cette modélisation emploie communément des descripteurs topologiques, géométriques, électroniques ou physico-chimiques.

⁷ IP = [DSEO la plus faible du groupe x 50 kg poids corporel (p.c.)] / exposition maximale en mg/j

La modélisation par QSAR, en revanche, se fonde sur des algorithmes statistiques spécialisés dérivés des banques de données existantes sur un grand nombre de substances chimiques hétérogènes (7). Cette méthodologie emploie des « sondes », qui évaluent une propriété en fonction de la globalité de la molécule et non plus uniquement, comme c'est le cas pour SAR, en fonction d'une ou plusieurs régions de la molécule. Ces modèles conduisent à l'établissement d'équations mathématiques qui mettent en rapport les caractéristiques structurales et les paramètres physico-chimiques d'une molécule avec un effet toxicologique donné.

Concernant la méthodologie QSAR, le CSAH⁸ de la Commission européenne a reconnu que l'utilisation de cette méthodologie, notamment le modèle conservateur « linearised multistage », pourrait être prometteuse dans l'estimation du risque cancérogène des substances présentes dans l'alimentation

(44). Néanmoins, il est important de souligner que la prédiction reste restreinte à une famille structurale parfaitement délimitée et pour un seul effet toxique considéré.

Pour le moment, le modèle SAR est le seul utilisé dans l'évaluation de risques et ce uniquement à des fins de classification des substances car il reste encore de larges incertitudes quant à son utilisation pour estimer le potentiel toxique complet des substances.

1.4 Mode d'élaboration du seuil de préoccupation toxicologique

La fixation des seuils de préoccupation toxicologique s'est déroulée de manière différente pour les composés à effet déterministe et ceux à effet stochastique.

5.4.1 Composés à effet déterministe

Utilisant une partie des travaux de Cramer *et al.*(9) la US FDA fut parmi les premiers à introduire la notion de niveau d'exigence proportionné dans les dossiers toxicologiques. Dans le Red Book 1 définissant les obligations concernant les essais toxicologiques à mettre en œuvre dans le cas des colorants et des additifs alimentaires (12) les informations sur la structure chimique sont croisées avec des données d'exposition potentielle afin de classer ces produits par niveau de précaution ; les composés les plus préoccupants nécessitant les données toxicologiques les plus complètes. Cette approche par "réponse proportionnée" en fonction à la fois du danger intrinsèque présumé à partir des SAR et des niveaux d'exposition, fut progressivement reprise par d'autres institutions américaines ou internationales (34), (49), (35). Conduisant la US FDA à l'établissement du "threshold of regulation" mentionné plus haut (40).

En fait, l'idée d'établir un seuil "universel" de protection valable quel que soit le composé, a été initialement développée par Frawley dès la fin des années 60 (15). Ce dernier suggéra de s'appuyer sur les résultats des études de toxicité chroniques réalisées chez l'animal afin d'en tirer un niveau d'exposition sans effet. Une base de données concernant les essais non cancérogènes de 220 substances (additifs alimentaires, pesticides et autres) a été établie. Frawley observa l'ensemble des DSEO et conclut que si l'on écartait les éléments métalliques et les pesticides, aucun des composés restant n'induisait de signes de toxicité chronique pour des concentrations inférieures à 100 mg/kg dans l'aliment. L'application d'un facteur de sécurité de 1000 tenant compte du caractère incomplet des données l'a conduit à proposer une valeur seuil de 0,1 mg/kg dans l'aliment.

Près de trente ans plus tard, Munro (30) réactualise la démarche, en intégrant la classification de Cramer, et l'élargit par la prise en compte d'une base de données toxicologiques plus complète et plus variée comportant 613 substances (chimiques, pharmaceutiques, alimentaires, phytosanitaires). Pour chaque composé sont répertoriés le nom, le numéro CAS, la classe structurale dans l'arbre de Cramer, l'espèce animale étudiée, le sexe, les voies d'administration, les doses administrées, le type d'étude, la durée, les effets observés, les DSEO, les DSEIO et les références bibliographiques. Ce gros travail de compilation, de mise à niveau voire d'homogénéisation des données a été réalisé sur 137 composés de classe I, 28 composés de classe II et 448 composés de classe III. Les essais chroniques sont prioritairement retenus mais dans de nombreux cas ils font défaut de sorte que les études sub-chroniques sont également utilisées. Aucune étude de toxicité aiguë n'est incluse dans la base. Les DSEO obtenues dans les essais de toxicité sub-chroniques sont divisées par un facteur d'ajustement de 3 pour approcher les DSEO susceptibles d'être observées lors d'essais de toxicité chroniques. Ce facteur d'ajustement est justifié par des études comparant des DSEO de 33 substances, issues d'essais de toxicité sur 90 jours et 2 ans (48). Plus récemment, d'autres études semblent confirmer que ce facteur d'ajustement se situerait bien entre 2 et 3 (4). Au total, ce sont 2941 DSEO qui sont répertoriées.

⁸ Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine

A partir de ces résultats, Munro (30) retient pour chaque composé la DSEO la plus faible sans prendre en compte l'espèce ou le sexe. Les valeurs de DSEO s'échelonnent entre 7203 et 0,018 milligrammes par kilogramme par jour (mg/kg/j) et la distribution est de type Normal pour chacune des classes de Cramer ainsi que pour l'ensemble des trois classes (Figure IV).

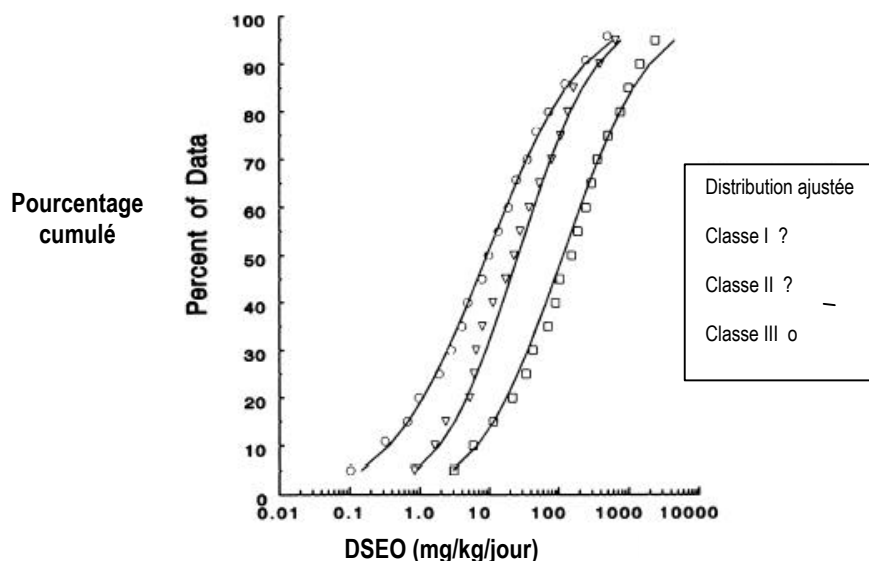


Figure IV : Pourcentage cumulé des DSEO selon les classes structurales de Cramer
Adapté de (31).

On peut ainsi estimer qu'en raison du nombre important de substances prises en compte, l'introduction de nouvelles données toxicologiques concernant des composés jusqu'alors non-retenus ne modifiera pas de façon significative la nature de la distribution. De plus les substances du groupe III considérées comme potentiellement les plus toxiques, sont fortement représentées dans les données servant à la modélisation (448 substances sur 613) ce qui constitue une marge de sécurité additionnelle.

A partir de la modélisation des pourcentages cumulés, il est possible de déterminer pour chaque classe structurale la proportion de composés qui dans la base de départ ont une DSEO inférieure à la valeur retenue. Munro (30), utilisant la démarche inverse, détermine le 5^{ème} percentile (P5) des distributions respectives de chaque groupe et applique à cette valeur, le facteur de sécurité de 100 afin d'établir un seuil de préoccupation toxicologique. Choisir le P5 signifie qu'*a priori* un composé de toxicité non connue appartenant à cette classe, ou qui peut y entrer en utilisant l'arbre de Cramer, a 95% de chance que sa propre DSEO soit supérieure à la valeur du P5.

En utilisant une distribution log-normale des DSEO le 5^{ème} percentile correspond à :

- 0,22 mg/kg de poids corporel (p.c.)/jour pour l'ensemble de la base
- 3,00 mg/kg p.c./jour pour la classe I
- 0,91 mg/kg p.c./jour pour la classe II
- 0,15 mg/kg p.c./jour pour la classe III

ce qui correspond en appliquant un facteur d'incertitude de 100 et en considérant un poids corporel de 60 kg à une valeur seuil d'exposition de :

- 1,80 mg/personne/jour pour la classe I
- 0,54 mg/personne/jour pour la classe II
- 0,09 mg/personne/jour pour la classe III

Les données de toxicité ainsi analysées montrent que dans le cas des substances appartenant à la classe III, qui comporte celles considérées comme potentiellement les plus toxiques, 24 composés sur 448 étudiés ont une DSEO inférieure à la valeur correspondant au P5 pour cette classe (0,15 mg/kg de p.c./jour). Néanmoins, lorsqu'on compare les valeurs d'exposition pour ces 24 composés au seuil d'exposition calculé pour les substances appartenant à la classe III (0,09 mg/personne/jour), ces valeurs restent inférieures avec des facteurs de sécurité allant de 3 à 90 selon le composé.

Si l'on effectue ce calcul en prenant en compte non pas le 5^{ème} percentile mais le 1^{er} percentile (P1, moins de 1% des substances ont une DSEO inférieure à cette valeur), seuls 8 composés sur 448 ont une DSEO inférieure à la valeur seuil correspondante (0,02 mg/kg p.c./jour pour la classe III). Lorsqu'on compare les valeurs d'exposition de ces 8 composés au seuil d'exposition calculé pour les substances appartenant à la classe III, ces valeurs restent inférieures avec des facteurs de sécurité allant de 15 à 90 selon le composé.

Le principal reproche fait à l'approche de Munro était qu'elle ne prenait qu'imparfaitement en compte certains effets toxicologiques qui pouvaient apparaître à des doses très faibles ; en particulier neurologiques, endocriniens ou immunologiques. Ceci motiva des recherches complémentaires dans ces domaines spécifiques, dont la synthèse a été réalisée par Kroes *et al* (28).

1.4.1.1 Immunotoxicité

Trente sept composés ont été sélectionnés à partir d'une base de données qui rassemble des substances pour lesquelles on suspecte un effet immunotoxique. Pour seulement 15 des 37 substances, l'immunotoxicité était l'effet toxique apparaissant aux doses les plus basses. Cependant, pour 19 de ces 37 substances les données disponibles n'ont pas permis de déterminer des DSEO mais uniquement des doses minimales ayant un effet observable (DMEO)⁹. Il est apparu que pour les 18 substances restantes, l'ordre de grandeur des DSEO identifiées pour les effets d'immunotoxicité était semblable aux DSEO identifiées pour d'autres effets non-cancérogènes. Également, les DMEO identifiées pour les 19 substances restantes étaient du même ordre de grandeur que les DMEO observées pour d'autres effets non-cancérogènes (22). Ainsi, les résultats disponibles suggèrent que l'effet immunotoxique n'apparaît pas à des doses plus basses que celles identifiées pour d'autres effets non-cancérogènes.

1.4.1.2 Toxicité sur la reproduction

L'étude d'une base de données regroupant 81 molécules manifestant une toxicité lors du développement, dont 71 étaient déjà incluses dans la base de données de Munro et Kroes, montrent que les DSEO identifiées pour ces molécules, même issues d'études multigénérations, ne sont pas plus basses que celles observées pour une toxicité d'une autre nature (Figure V).

1.4.1.3 Neurotoxicité

Sur la base d'études spécifiques portant sur 45 composés neurotoxiques, la courbe de distribution des DSEO est décalée vers des valeurs plus faibles que celles observées pour d'autres effets toxiques non cancérogènes. La dose correspondant au 10^{ème} percentile est de 195 ng par kg pc par jour, soit environ 12 µg pour une personne de 60 kg¹⁰ et par jour. Dans l'analyse réalisée par Munro, 6 molécules ont une DSEO inférieure au 5^{ème} percentile pour les substances appartenant à la classe III et il s'agit principalement de pesticides dont l'effet cible correspond à une inhibition de l'activité cholinestérasique.

Trente molécules susceptibles d'induire des troubles du développement du système nerveux sont également considérées; les DSEO correspondantes sont du même ordre de grandeur que celles observées pour des toxicités d'autres natures (Figure V).

⁹ ou LOEL (lowest observed effect level) pour les Anglo-Saxons.

¹⁰ 60 kg représente le poids moyen communément admis par les instances internationales pour un adulte.

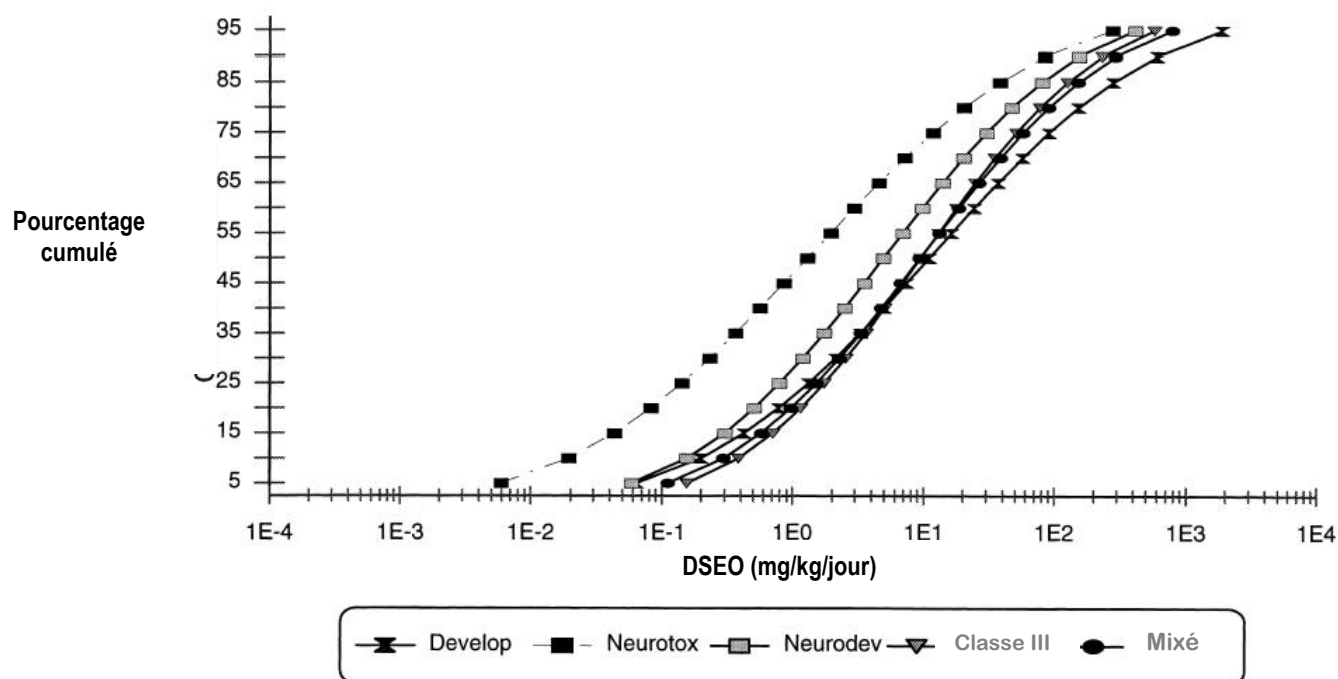


Figure V : Distribution cumulée des DSEOs pour les effets cibles non cancérigènes
Adapté de
(28).

1.4.1.4 Toxicité endocrine

La réflexion concernant les possibles répercussions endocriniennes s'est principalement focalisée sur les substances qui présenteraient potentiellement une activité de perturbateurs œstrogéniques. Les différentes analyses montrent que pour ces substances, la proportion de perturbateurs endocriniens introduits par l'homme (pesticides par exemple) et présents dans l'alimentation est très faible comparée à celle apportée par d'autres voies (isoflavones naturellement présentes dans les aliments ou médicaments à base d'œstrogènes) (28). Néanmoins, il n'existe pas actuellement de banque de données relatives à ce type d'activité suffisamment consolidée pour que la comparaison avec d'autres dangers, qui seraient associés à ce type de substances, puisse être effectuée. De nombreuses zones d'incertitude demeurent quant aux réelles répercussions biologiques de ce type de substances (ex : phénomène d'hormésis¹¹ éventuel, signification par rapport aux variations physiologiques des taux hormonaux chez l'humain). Des impacts thyroïdiens ou anti-androgènes sont également mentionnés pour des composés particuliers. Toutefois, certains auteurs ont considéré qu'il est peu probable que des additifs alimentaires ou des contaminants alimentaires indirects puissent, en l'absence d'une exposition répétée dans le temps et aux niveaux de dose généralement observés dans les études *in vitro*, générer un impact endocrinien significatif chez l'homme (28).

De plus, l'attribution d'une réelle activité de perturbateur endocrinien à une substance reste très complexe. Hormis quelques cas isolés, cette difficulté, associée à la difficulté d'évaluer l'exposition réelle aux substances présentant une potentialité de perturbateurs endocriniens, ne permet pas de démontrer l'association spécifique *in vivo* entre exposition humaine et effet indésirable de nature endocrinienne (26). Il reste cependant possible que les méthodes de détection actuellement disponibles ne soient pas suffisamment sensibles pour détecter un tel impact.

Ces incertitudes font que dans l'état actuel de connaissances scientifiques les modes d'attribution à une substance d'un éventuel risque d'activité endocrinienne, n'apparaissent pas suffisamment spécifiques pour que cet effet soit retenu comme effet adverse « pivot » pour leur évaluation. Toutefois, des développements futurs dans ce domaine pourraient amener à réviser cette position.

¹¹ L'hormésis est un phénomène observé dans certaines études chez l'animal qui montrerait que la courbe dose-réponse d'une substance, dans la zone de très faibles doses, ne serait plus linéaire mais adopterait une forme concave (en U).

1.4.1.5 Allergénicité

Même si la voie orale peut sembler moins active pour induire des allergies que la voie cutanée ou l'inhalation, la prévalence des allergies alimentaires dans certaines régions d'Europe se situerait entre 5 à 6% de la population, alors que la prévalence réelle d'intolérance aux additifs alimentaires serait de l'ordre de 1 à 2 % de cette même population (43).

Les allergènes majeurs sont essentiellement des protéines présentes dans les œufs, le lait, les crustacés, les poissons, les légumes, les fruits et végétaux, les amandes, les noix, le blé et autres céréales.

Toutefois, en absence de banques de données comportant suffisamment de renseignements sur les doses minimales d'allergènes requises pour déclencher une réponse allergique chez certaines fractions de la population, ainsi qu'en raison de l'insuffisance de tests validés capables de mesurer les capacités allergéniques chez l'animal, dans l'état actuel des connaissances on peut considérer que l'étiquetage des produits reste une mesure appropriée¹².

1.4.2 Composés à effet stochastique

C'est en 1986, lors de la mise en place par la US FDA du concept de seuil de « réglementation » concernant les additifs alimentaires, que Rulis, en se focalisant sur les composés cancérogènes, décrit l'approche probabiliste permettant d'accéder à une première valeur de seuil de préoccupation toxicologique. La démarche s'appuie sur la base de données établie par Gold *et al.* (17) et complétée jusqu'à ce jour dans le cadre du projet Carcinogenic Potency Database¹³.

Cette base de données concerne 975 composés et compile près de 3700 essais de cancérogenèse à long terme parus dans la littérature scientifique ou issus des rapports du NCI/NTP¹⁴. Sur ces 975 composés, 955 ont été testés chez le rat ou la souris et 492 ont induit une augmentation de l'incidence de tumeurs (342 chez le rat et 278 chez la souris). La base de données représente un énorme travail de compilation et de contrôle de la qualité des essais, elle permet d'accéder à des informations sur les conditions expérimentales, l'espèce et la souche utilisée, le sexe, les schémas d'application des doses, les voies d'administration et indique les conclusions des auteurs de l'étude. Toutes les expérimentations réunies vérifient certains critères d'acceptation comme l'existence d'un groupe contrôle, l'absence d'administration sous forme de mélange, une administration par gavage, inhalation, injection intraveineuse ou intra-péritonéale, sur une durée au minimum égale au quart de la durée de vie habituelle de l'espèce et une période d'observation au minimum égale à la moitié de cette durée.

Afin de pouvoir comparer l'effet cancérogène de différentes molécules présentes dans la base de données, le potentiel cancérogène des composés ayant au moins un résultat positif est indiqué sous la forme d'une « tumor dose » TD_{50} ¹⁵. Le choix de cet index repose sur un argumentaire développé par Peto *et al.* (37) qui montre qu'il présente une analogie avec la dose létale 50 (LD_{50}). Cet index, calculé initialement par une approche graphique et affinée sur la base d'un modèle dose-réponse linéaire de type « one-hit » (37) (42) représente la dose chronique pour laquelle 50 % des animaux ne présentent pas de manifestation tumorale pendant une période standard (généralement la durée de vie de l'espèce prise en considération). Elle est exprimée en mg/kg poids corporel (p.c.) par jour durant la durée de vie de l'animal (18 mois, 2 ans), à dose constante et en tenant compte de la mortalité intercurrente lorsque cela est possible.

L'incidence de tumeurs (τ) au temps t est reliée à la dose (d) par :

$$\tau(t,d) = (1 + \beta d) \tau_0(t)$$

où $\tau_0(t)$ représente l'incidence en l'absence d'exposition et β un paramètre inconnu et à estimer.

¹² Directive 2000/13/CE du Parlement européen et du conseil relative au rapprochement des législations des Etats membres concernant l'étiquetage et la présentation des denrées alimentaires ainsi que la publicité faite à leur égard.

¹³ Carcinogenic potency database project, <http://potency.berkeley.edu/>

¹⁴ Technical reports of the National Cancer Institute/National Toxicology Program; <http://ntp-server.niehs.nih.gov/>

¹⁵ entre les composés les plus cancérogènes comme le TCDD, aflatoxine B1 et des composés faiblement cancérogènes (DDT, métronidazole) la TD_{50} varie d'un facteur de 1 million.

Sur la base de cette équation, la probabilité conditionnelle ($P(d,T)$) qu'un animal exposé à la dose d pour un temps T présente une tumeur, en ne tenant compte d'aucune autre cause possible de mortalité, est

$$P(d,T) = 1 - \exp \{-(1 + \beta d) \lambda_0(T)\}$$

où $\lambda_0(T) = \int_0^T \lambda_0(t) dt$, est l'incidence cumulée en absence d'exposition.

Le moment d'apparition de la tumeur n'étant pas forcément directement accessible, Sawyer contourne la difficulté en utilisant la date du décès de l'animal comme date d'apparition de la tumeur. Toutefois, si cette approche est appropriée pour des tumeurs rapidement létales, des ajustements ou des approches différentes ont été proposés par plusieurs auteurs afin de mieux tenir compte du délai d'apparition de la tumeur ainsi que de la date du décès dû à la tumeur ou encore de décès dus à d'autres causes.

Afin d'extrapoler ces données expérimentales obtenues à doses élevées vers de faibles doses d'exposition, plutôt que d'utiliser une modélisation mathématique mécanistique ou de distribution (18), Rulis de manière très pragmatique, emploie le modèle d'extrapolation linéaire qui relie d'une droite l'origine à la TD_{50} de chaque substance étudiée. Cette méthode a l'avantage de permettre une facile utilisation de base de données disponibles tout en assurant une estimation de risques très conservatrice dans la région de faibles doses d'exposition (41). La pente de cette droite $(2TD_{50})^{-1}$ est utilisée par Rulis pour estimer la distribution des doses d'exposition correspondante à un excès de risque de 1 cancer supplémentaire pour un million d'individus.

Krewski *et al.* (27) ont évalué cette procédure, sur 585 molécules, par rapport à celle utilisant la pente q^* donnée par un modèle multi étapes linéarisé (linearized multi-stage), retenu à l'époque par la US EPA¹⁶ pour évaluer les risques cancérigènes. Ils montrent que les pentes calculées selon ces deux méthodes sont proches dans la grande majorité des cas (rapport compris entre 0,5 et 1,5). A l'exception de 11 composés, les pentes estimées varient d'un facteur 10 autour de q^* , le ratio médian étant de 0,7. La méthode proposée par Rulis est d'autant plus conservatrice que la courbe dose effet est infra-linéaire (concave). Par ailleurs Hoel et Portier (21) observent que pour 315 composés cancérigènes inclus dans le NTP, la réponse est plutôt de type quadratique que linéaire, confirmant que l'approche utilisée par Rulis surestime généralement le risque.

A partir des pentes ainsi calculées, Rulis détermine pour une série de 343 composés les doses d'exposition qui correspondent à un excès de risque supplémentaire de 1 cancer par million de sujets (Figure VI). Ces doses se distribuent selon une loi normale à partir de laquelle il devient possible de déterminer la probabilité qu'une substance cancérigène prise au hasard, de dépasser, à une dose donnée, le niveau de risque fixé (10^{-6}). Dans le cas de la fixation d'un seuil de régulation pour les matériaux au contact des aliments, Rulis considère que 5% des aliments sont conditionnés avec ces matériaux et que le niveau de migration des matériaux vers l'aliment est de 1 $\mu g/kg$ d'aliment emballé, seuil de détection analytique raisonnable à cette époque.

La dose quotidiennement ingérée selon ce schéma¹⁷ de 0,15 μg , correspond à un risque inférieur à 10^{-6} pour 85% des substances cancérigènes et Rulis propose donc de retenir la valeur de 0,15 μg par jour et par personne comme seuil de préoccupation toxicologique.

En comparant avec les valeurs seuils retrouvées pour des effets non-cancérigènes, il apparaît que le seuil le plus faible est obtenu pour la cancérigénicité et qu'il est logique, de ce fait, de baser le seuil de préoccupation toxicologique sur cet effet.

¹⁶ Environnementale protection agency, <http://www.epa.gov/IRIS/>

¹⁷ sur la base d'une consommation de 3 kg d'aliments solides ou liquides.

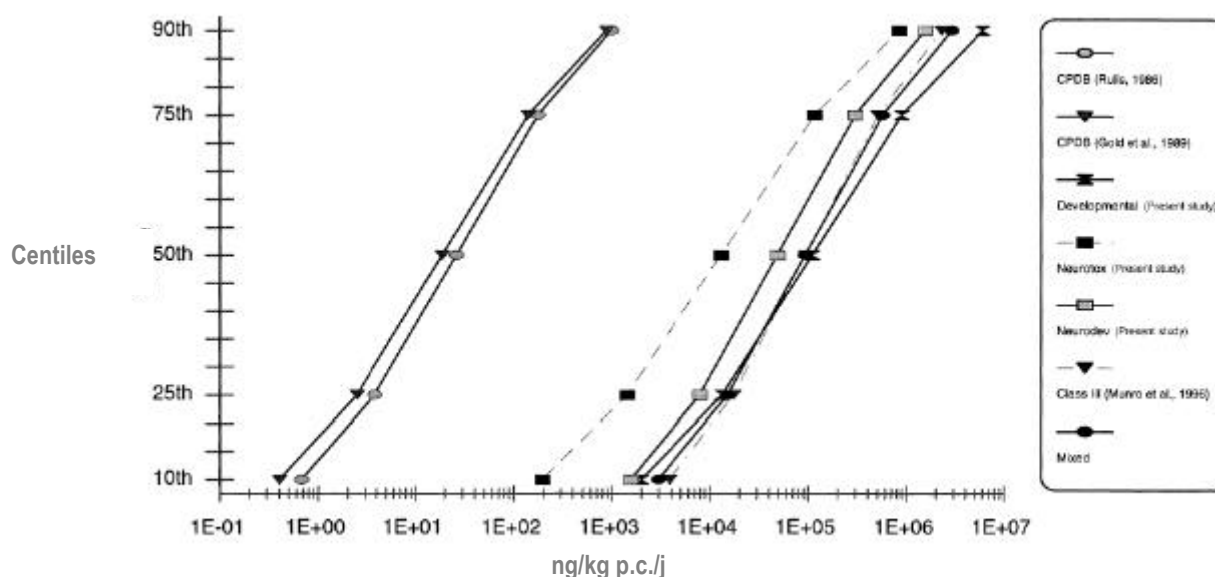


Figure VI : Distribution des doses correspondant aux DSEO (composés non cancérogènes) et à un excès de risque de 10^{-6} (composés cancérogènes)
Adapté de (28).

A l'origine, cette valeur concernait exclusivement la distribution des risques associée à des substances reconnues comme cancérogènes. Néanmoins, en considérant qu'une part seulement de substances susceptibles d'être rencontrées dans l'alimentation pourrait être de nature cancérogène, Munro *et al* (31) ont affiné cette approche probabiliste pour calculer les risques cancérogènes liés à la consommation de substances nouvelles de toxicité inconnue.

En faisant porter l'analyse sur davantage de molécules (492) ces travaux ont permis de montrer qu'une consommation de 1,5 µg par jour d'une substance chimique, aurait 63% des chances de ne pas induire un dépassement de risque supplémentaire de 1 cancer sur 1 million d'individus (10^{-6}) si l'on présume que 100% de toutes les substances nouvelles de toxicité inconnue auxquelles la population pourrait être exposée s'avéraient manifestement cancérogènes (Tableau III). Ces chances augmentaient à 96%, dans le cas où l'on présumerait que 10% de substances nouvelles, s'avèrent cancérogènes.

Les résultats de ces travaux ont conduit à réexaminer la valeur de 0,15 µg par jour par personne et à proposer une nouvelle valeur seuil à 1,5 µg, valeur adoptée finalement par la US FDA (14), (33). Cette instance a considéré qu'un niveau d'exposition de cet ordre, conduirait à un risque sanitaire négligeable même dans le cas où, une substance de toxicité inconnue montrerait par la suite des potentialités cancérogènes.

La valeur de 1,5 µg par personne et par jour, proposée comme un SEPT, proviendrait ainsi d'une décision pratique de « gestion de risques » associée à un calcul de risques cancérogènes intégrant les substances nouvelles de toxicité inconnue.

Tableau III. Probabilité pour qu'un risque ciblé (10^{-6} ou 10^{-5}) ne soit pas dépassé à différents seuils d'exposition. Adapté de (33) et (57).

	Risque ciblé, 10^{-6}				Risque ciblé, 10^{-5}			
	Pourcentage des substances nouvelles présumées cancérogènes							
	100%	50%	20%	10%	100%	50%	20%	10%
Valeur seuil d'exposition ($\mu\text{g}/\text{jour}$)	Probabilité de non-dépassement du risque (%)				Probabilité de non-dépassement du risque (%)			
0,15	86	93	97	99	96	98	99	>99
0,3	80	90	96	98	94	97	99	99
0,6	74	87	95	97	91	96	98	99
1,5	63	82	93	96	86	96	97	99
3,0	55	77	91	95	80	90	96	98
6,0	46	73	89	95	74	87	95	97

2 Considérations d'exposition

La comparaison de données d'exposition vis-à-vis de la valeur d'un seuil d'exposition est nécessaire pour permettre l'évaluation de substances chimiques par l'intermédiaire d'un arbre de décision. Dans le cas de l'évaluation des matériaux aux contacts des denrées alimentaires, la première étude de Rulis comporte d'ailleurs une étude d'exposition qui estime, à partir du seuil toxicologique proposé et de la consommation alimentaire, la sensibilité des méthodes analytiques nécessaire pour détecter les substances chimiques à risque dans les aliments.

De son côté, Munro propose pour les arômes une méthode de calcul d'exposition basée sur les données de consommation apparente, un taux de déclaration ou de couverture de 60% et une hypothèse de 10% de consommateurs (31)). Ces auteurs ont ainsi développé en parallèle une réflexion sur les méthodes de calcul d'exposition pouvant être utilisées pour assurer une comparaison au seuil de préoccupation toxicologique de 1,5 µg/personne/jour.

Il faut souligner que le fait d'utiliser une valeur unique comme seuil de préoccupation toxicologique pour un ensemble de substances différentes, met davantage l'accent sur les données d'exposition pour établir des priorités d'évaluation (« Exposure driven risk assessment ») renforçant d'autant le rôle et la pertinence des études d'exposition.

La méthode de calcul du seuil de préoccupation toxicologique est, par définition, globale et ne dépend pas de la substance à évaluer. Son utilisation se situant dans une procédure de détermination de priorités ou de discrimination, elle concerne un nombre souvent élevé de substances. Une estimation précise des expositions pour chacune des substances à étudier ne peut donc pas être envisagée dans cette phase. Ainsi, d'une part l'application de la notion de seuil de préoccupation toxicologique renforcerait le rôle des calculs d'exposition dans la définition de priorités pour l'évaluation des substances, et d'autre part, il serait extrêmement difficile d'étudier de façon détaillée les expositions à un grand nombre de substances.

Cependant, dans la mesure où l'objectif est de déterminer des priorités d'évaluation, il n'est pas pénalisant de surestimer l'exposition, contrairement à une sous-estimation, qui pourrait être dommageable pour la protection des consommateurs.

Trois méthodes rapides et sur-estimatrices de l'exposition pour les consommateurs adultes sont présentées ci-dessous. Ces méthodes sont utilisées par différents organismes d'évaluation des risques pour l'évaluation des additifs et arômes alimentaires et des matériaux au contact des aliments.

2.1 Les additifs alimentaires

Dans le domaine des additifs alimentaires, la principale méthode d'évaluation globale de l'exposition utilisée en Europe est celle dite du « budget » utilisée notamment par Hallas-Moeller (20) Elle est basée sur une quantité forfaitaire d'aliments solides et d'aliments liquides rapportée au poids corporel. L'exposition est calculée en multipliant la teneur réglementaire maximale de l'additif par l'ensemble de la consommation alimentaire. On fait ici l'hypothèse maximaliste que l'additif va être présent dans l'ensemble des produits alimentaires. On calcule ainsi un apport journalier maximal théorique ou AJMT¹⁸

Ce calcul repose sur l'hypothèse d'une consommation journalière maximale d'aliments solides de 25 g par kg de poids corporel dont seulement un quart (~ 6 g) est susceptible de contenir des additifs [ou la moitié (12,5 g) si l'on considère les produits de première transformation tels que les volailles, viandes, poissons, produits laitiers ou céréaliers. Pour les aliments liquides (lait non compris), la consommation maximale est de 100 ml par kilo de poids corporel dont un quart (25 ml) susceptibles de contenir des additifs.

AJMT = AJMT boissons + AJMT solides ;

AJMT boissons = niveau d'utilisation en mg/L de boissons/40¹⁹ ;

AJMT solides = niveau d'utilisation en mg/kg d'aliment./160 (ou 80)²⁰.

¹⁸ TMDI -Theoretical maximum daily intake, pour les Anglo-Saxons

¹⁹ Le coefficient 1/40 est égal à 0,1/4= 0,025 litres de boissons par kg de p.c.

²⁰ Le coefficient 1/160 est égal à 0,025/4 kg d'aliments par kg de p.c. et le coefficient 1/80 est égal à 0,025/2 kg d'aliments par kg p.c.

Le caractère protecteur de cette méthode pour l'estimation des expositions au cours de la vie entière a été validé par comparaison avec l'estimation précise des consommations par enquête alimentaire (11).

D'autres méthodes d'estimation plus fines peuvent être ensuite utilisées si l'exposition maximale théorique ainsi calculée dépasse encore la DJA. Même si le SEPT n'est pas utilisé dans le cas des additifs alimentaires, cette méthode rapide devait être signalée car elle est simple et validée.

2.2 Les matériaux au contact des denrées alimentaires

Dans le domaine des matériaux au contact des denrées alimentaires, une méthode globale est utilisée au niveau européen pour la fixation des LMS (limite de migration spécifique). Elle prend en compte une consommation maximale de 1 kg d'aliments emballés dans un matériau donné comme par exemple une matière plastique. Cette consommation est multipliée par la migration (M) correspondant à celui des 4 milieux stimulants (aqueux, acide, alcoolique, gras) pour lequel la migration est la plus importante.

Au niveau français, le calcul du NET (niveau d'exposition théorique) est fondé sur la formule suivante :

$$\text{NET} = 0,8 (0,33 M_{\text{eau}} + 0,33 M_{\text{éthanol}} + 0,33 M_{\text{acide}}) + 0,2 M_{\text{huile}}$$

Le paramètre 0,2 correspond à la borne supérieure de consommation de lipides (200 grammes par personne et par jour correspondant au 95^{ème} percentile dans les enquêtes de consommation individuelle telles qu'INCA ou SUVIMAX).

Le paramètre 0,8 correspond à une consommation de 800 grammes d'aliments non gras emballés dans un matériau. On retrouve donc le kg d'aliments emballé par matériau utilisé au niveau européen en additionnant 200 grammes de matières grasses et 800 grammes d'aliments divers.

2.3 Les arômes

Pour les arômes, le document ILSI (22) propose de considérer les données de production suivant en cela le document préparé pour le JECFA par Munro (31). L'application d'un coefficient de 0,6 à ces données permet de corriger les risques éventuels de sous-estimation de la production. Afin de tenir compte du fait que les consommations peuvent être concentrées sur un petit nombre de consommateurs une proportion de 10% de consommateurs est considérée comme minimale. L'exposition maximale est alors égale à 10 fois la production de l'arôme en particulier. Cette estimation théorique maximaliste de l'exposition est appelée MSDI²¹. Le risque de sous-estimation de l'exposition se pose donc pour des arômes consommés par moins de 10% des consommateurs.

Une étude de validation de l'utilisation du coefficient 10 a été réalisée pour 10 arômes en 1999 par Hall et Ford (19). Ces arômes ont été choisis en raison de la diversité de leurs modes de consommation et notamment du nombre d'aliments qui les contiennent. Cette étude, utilise un carnet de consommation de 14 jours auprès de 12 000 individus et des données de composition en ingrédients issues d'un groupe de technologues, méthode DDA²² mise en place par la NAS²³. Le 95^{ème} percentile de la consommation ainsi calculé pour la population américaine de 2 ans et plus dépasse modérément l'exposition théorique basée sur le facteur 10 pour deux substances, le 2-hexenyl acétate et l'éthylméthylphénylglycidate. Pour les huit autres substances, l'exposition théorique basée sur l'utilisation du facteur 10 surestime le calcul plus précis basé sur la méthode DDA. Les auteurs considèrent donc que la méthode MSDI aboutit à une estimation protectrice de l'exposition. Ces résultats ont été récemment confirmés par les travaux de Lambe et collaborateurs (29) qui estiment par méthode probabiliste que la méthode MSDI est protectrice pour 11 substances sur les 12 étudiées.

L'intérêt pratique de l'utilisation des données de production réside dans le fait qu'il est inutile de connaître la concentration maximale de la substance à étudier dans les aliments ou ingrédients. L'inconvénient est que l'on ne prend pas en compte le niveau maximal d'exposition atteint par un consommateur qui consommerait la substance étudiée plus souvent que la moyenne des consommateurs. Il s'agit donc d'un ordre de grandeur pouvant être utilisé dans une procédure de détermination de priorités ou de discrimination.

²¹ Maximized survey derived daily intake = (production/0,6) (10/taille de la population).

²² Detailed dietary analysis.

²³ National academy of sciences, USA.

2.4 Autres méthodes globales de calcul d'exposition proposées dans d'autres contextes

Dans la réflexion actuelle sur la fixation de limites maximales d'enrichissement des aliments courants en vitamines et minéraux, une approche globale de l'exposition par Flinn et collaborateurs (23) est basée sur une quantité maximale d'énergie ingérée de 3 600 kcal par personne et par jour correspondant au 95^{ème} percentile des apports mesurés dans les enquêtes nationales de consommation (moyenne européenne des 95^{ème} percentiles). Deux facteurs de réduction sont pris en compte : 0,5 pour écarter du calcul les aliments frais non transformés et un facteur « part de marché ». Cette approche a été discutée par le groupe de travail Vitamines et minéraux de l'Afssa (5). Dans le domaine des contaminants, des résidus de pesticides ou des médicaments vétérinaires, le calcul des expositions passe d'abord par la prise en compte des consommations par grandes catégories d'aliments (54) au niveau national ou mondial (régimes alimentaires GEMS FOOD).

3 Discussion

3.1 Position des Comités d'experts spécialisés « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques », « Matériaux au contact des aliments » et « Eau »

3.1.1 Pertinence du concept

L'évaluation sanitaire des substances chimiques présentes à très faibles concentrations dans les denrées alimentaires par l'intermédiaire d'arbres de décision, fait appel à l'utilisation successive de deux seuils d'exposition. Le premier qui comporte trois valeurs (1,80, 0,54 et 0,09 mg/personne/jour) et le second qui comporte une seule valeur (1,5 µg/personne/jour).

Cette procédure est fondée sur une approche probabiliste qui comporte tout au cours de son élaboration des considérations conservatrices. Par exemple, le choix de déterminer le 5^{ème} percentile (P5) de distributions cumulées à partir uniquement des DSEO les plus faibles des substances cancérigènes, l'extrapolation linéaire des doses pour comparer l'effet des composés ayant au moins un résultat positif cancérigène, la prépondérance des substances ouvertement cancérigènes dans les bases de données analysées, la rétention d'un niveau de risque cancérigène inférieur à 10⁻⁶, la nécessité de caractériser au préalable par des structures d'alerte la non-génotoxicité de la substance chimique considérée, etc.

Pour le cas des substances non cancérigènes ou cancérigènes non-génotoxiques présentes à très faible concentration, les fondements scientifiques à la base de seuils d'exposition, appliqués dans le cadre des arbres de décision, semblent valides et acceptables.

Le fait que la grande majorité des évaluations toxicologiques de substances chimiques dans les denrées alimentaires conduisent à l'établissement des doses admissibles ou tolérables pour l'homme supérieures à la valeur de 1,5 µg/personne/jour proposée comme seuil de préoccupation toxicologique, est une forte indication que cette valeur constituerait un niveau d'exposition acceptable pour les substances non-génotoxiques.

En effet, l'actualisation de l'analyse réalisée par le CSAH en 1996 (44) à la totalité des additifs et contaminants alimentaires ainsi qu'aux pesticides évalués par le JECFA et par le JMPR²⁴ jusqu'à la fin 2003 (24) montre que pour l'ensemble des additifs alimentaires évalués, les doses d'exposition à partir des DJA les plus basses établies sont 10 000 fois supérieures à la valeur d'un seuil toxicologique de 1,5 µg/personne/jour.

De même, les doses d'exposition à partir des DHTP parmi les plus basses établies pour des contaminants alimentaires par le JECFA, en particulier le cadmium 7 µg/kg p.c. (soit 60 µg par jour pour une personne de 60 kg) et le méthyl-mercure 1,6 µg/kg p.c. (soit ~14 µg/jour) sont supérieures à la valeur de 1,5 µg/personne/jour (56). En revanche, pour l'ensemble de polychlorés dibenzodioxines (PCDD), polychlorés dibenzofuranes (PCDF) et polychlorés biphényles « dioxin-like » coplanaires (PCB) pour lesquels le JECFA a établi une DMTP de 70 picogrammes/kg p.c (55). (soit 4,2 µg/mois pour une personne de 60 kg) la valeur d'un seuil toxicologique de 1,5 µg/personne/jour est supérieure. Il a été constaté aussi que pour la totalité des pesticides évalués par le JMPR à cette date, les DJA établies restaient supérieures à une valeur de seuil toxicologique de 1,5 µg/personne/jour.

3.1.2 Limites du concept

Les interrogations subsistantes à propos du seuil de préoccupation toxicologique de 1,5 µg/personne/jour, peuvent être résumées ainsi : cette valeur d'exposition journalière protège-t-elle également des effets cancérigènes génotoxiques qui pourraient provenir des substances chimiques présentes à très faible concentration dans les aliments.

Les d'études expérimentales disponibles sur l'animal, très limitées, d'administration des faibles doses des cancérigènes génotoxiques, ne semblent pas indiquer l'existence d'un seuil mesurable pour ce

²⁴ Joint FAO/WHO Meeting on Pesticides Residues

type d'effet (37). Bien qu'il subsiste des lacunes dans la compréhension des mécanismes de génotoxicité et de cancérogénicité, par mesure conservatoire, il est généralement retenu dans la pratique d'évaluation de risque que l'exposition à une seule molécule génotoxique est capable de provoquer l'apparition d'une tumeur.

Dans ces conditions, il ne semble pas envisageable à ce stade de considérer l'application d'un seuil de préoccupation toxicologique aux substances cancérogènes génotoxiques.

Ainsi, comme indiqué précédemment, afin de s'assurer qu'un maximum de substances génotoxiques sont écartées d'une évaluation par arbre de décision, celui-ci doit inclure en amont, l'identification de structures d'alerte identifiées comme indicatrices d'une éventuelle activité cancérogène-génotoxique.

3.1.3 Les structures d'alerte

La US FDA applique l'examen de la présence de structures d'alerte potentiellement cancérogènes lors de l'évaluation des additifs et colorants alimentaires (12). En général, elles possèdent des groupements fonctionnels électrophiles qui peuvent réagir avec l'acide désoxyribonucléique (ADN). Ces groupements peuvent être présents à l'origine dans la structure chimique de la substance ou être formés au cours d'une activation métabolique. Ils peuvent également être éliminés durant les phases de détoxification métabolique de la substance.

La US FDA prévoit pour l'évaluation d'additifs et colorants alimentaires, une catégorie « C » qui comportent des composés et métabolites chimiques présentant une structure en relation avec une substance reportée mutagène ou cancérogène ou une substance présentant une structure en relation avec une substance démontrée cancérogène chez l'homme ou chez les animaux de laboratoire (13). Un total de 55 sous-groupes chimiques individuels a été rassemblé dans six groupes majeurs dépendant de la présence ou de l'absence des groupes chimiques fonctionnels spécifiques (Tableau IV).

Tableau IV. Groupements fonctionnels majeurs indicatifs d'une activité cancérogène appartenant à la Catégorie structurale « C » proposé par la US FDA. Adapté de Bureau of foods, Washington DC.
(13)

a)	hydrocarbures alcéniques aliphatiques (multi-fonctionnels et conjugués) et hydrocarbures alcyniques aliphatiques (avec ou sans groupes fonctionnels C et O)
b)	hydrocarbures (mono- et multi-fonctionnels) aromatiques (mono- et polycycliques)
c)	hydrocarbures aliphatiques et aromatiques (mono- et multi-fonctionnels) avec de groupements fonctionnels contenant des atomes de N, P et S
d)	substances chimiques hétérocycliques
e)	substances chimiques inorganiques et organométalliques
f)	mélange de substances chimiques des sections a) à e) avec d'autres chimiques inconnus

Munro et collaborateurs ont également proposé une liste de groupements fonctionnels répertoriés en tant que structures d'alerte d'une activité cancérogène-génotoxique pour l'évaluation des arômes (Tableau V) (57).

Tableau V. Groupes fonctionnels identifiés en tant que structures d'alerte pour une réactivité vis-à-vis de l'ADN. Adapté de (57).

a)	esters d'alkyle d'acide phosphonique ou sulfonique	b)	groupes nitro-aromatiques
c)	groupes azoïques aromatiques	d)	N-oxydes cycle aromatique
e)	groupes aromatiques mono- et di-alcylés	f)	alkyl hydrazines
g)	alcyle aldéhydes	h)	dérivés du N-méthylol
i)	mono halogènes alkanes	j)	dérivés beta-haloéthylés du gaz moutarde N et S
k)	N-chloramines	l)	propiolactones et propiosulfones
m)	dérivés aromatiques et aliphatiques d'azeridines	n)	substitués aromatiques et aliphatiques d'halogénures primaires alcylés
o)	dérivés d'uréthanes (carbamates)	p)	N-alkyl nitrosamines
q)	amines aromatiques et ses dérivés N-hydroxy	r)	époxydes aliphatiques et oxydes aromatiques
s)	centre de réactivité type Michael	t)	halométhane [C(X) ₄]
u)	groupe nitro- aliphatique		

Dans leurs travaux, Ashby et Tennant (1) (2) avaient reparti les substances testées par le US NTP dans six « classes chimiques », trois d'entre elles comportaient de composés aromatiques de type amino ou nitro (composés contenant un atome d'azote lié à un noyau aromatique) ; des composés intrinsèquement électrophiles comportant des groupements halogénés réactifs et des composés mineurs comportant des substances avec diverses structures d'alerte. Les trois autres classes chimiques incluaient de substances comportant d'halogénés non-réactifs, de substances sans groupements électrophiles, et de substances ne possédant pas de structures d'alerte évidentes (1). Les auteurs ont constaté que les substances classées dans les trois premières catégories chimiques étaient majoritairement des substances génotoxiques (87% en moyenne et jusqu'à 100% pour les substances dans la classe regroupant de composés aromatiques de type amino ou nitro) alors que les substances classées dans les deux dernières catégories, représentaient moins du 5% des substances génotoxiques. Les structures chimiques des substances étudiées et leurs numéros de CAS respectifs peuvent être trouvées dans les références indiquées ci-dessus.

3.1.4 L'estimation de l'exposition

Concernant les différentes méthodes d'estimation rapide et sur-estimation des expositions applicables à la notion de seuil de préoccupation toxicologique, il a été constaté qu'en général, dans les procédures de détermination de priorités ou de discrimination, l'exposition est calculée en divisant les consommations de la substance à étudier par un poids corporel standardisé (par exemple, 60 kilos). On s'intéresse donc en priorité à l'adulte et non au jeune enfant. C'est là une difficulté majeure de l'interprétation des résultats obtenus car la surestimation de l'exposition pour l'adulte n'est pas généralisable à l'enfant du fait que celui-ci a un poids corporel plus faible et donc souvent un niveau d'exposition par poids, supérieure à celui de l'adulte. Dans le cadre de la définition de priorités d'évaluation, la non prise en compte du cas particulier de l'enfant pourrait conduire à changer la hiérarchisation des priorités, dans le cas où les aliments vecteurs de la substance d'intérêt seraient

spécifiques de la consommation infantine. Il convient donc d'être particulièrement vigilant vis-à-vis de cette question afin que l'utilisation éventuelle de la notion de seuil de préoccupation toxicologique, ne conduise pas à retarder l'examen d'une substance qui aurait pu être considérée comme prioritaire si le modèle de consommation de l'enfant avait été pris en compte.

L'examen des méthodes d'estimation de l'exposition utilisées dans des procédures d'établissement de priorités d'évaluation, montre qu'il n'existe pas actuellement de méthode universelle mais des approches spécifiques pour les différentes catégories de substances pouvant être présentes dans les aliments. Ces différentes méthodes d'estimation de l'exposition obéissent à l'impératif de simplicité d'utilisation.

Toutefois, la nécessité de s'assurer du caractère protecteur de ces méthodes a conduit à plusieurs travaux de validation récents qui s'appuient sur des méthodes plus précises et plus complexes d'estimation des expositions. Ces méthodes utilisent des enquêtes de consommation alimentaire et des données de composition des aliments beaucoup plus approfondies, quelquefois au niveau des marques commerciales des produits. Cependant, les travaux de validation de ces méthodes sont encore peu nombreux et ne portent pas sur des données françaises.

3.2 Position du Comité d'experts spécialisé « Résidus et contaminants chimiques et physiques »

Le Comité d'experts spécialisé Résidus et contaminants chimiques et physiques a considéré, que le modèle comportant un seuil de préoccupation toxicologique se propose de remédier à la critique opposée usuellement à l'approche toxicologique classique d'être d'une lenteur notable ce qui ne permet pas de répondre « au besoin motivé par les demandes des consommateurs et des organismes de gestion, d'évaluer ou de réévaluer un nombre sans cesse croissant de substances présentes ou susceptibles de l'être dans les aliments ». Il est clair que si le modèle comportant un seuil de préoccupation toxicologique et l'arbre de décision proposé en corollaire pouvaient être validés pour les additifs et contaminants alimentaires, il pourrait s'avérer utile pour l'ensemble des toxicologues notamment dans le cadre des campagnes de réévaluation ; dans le cadre d'une première évaluation, l'utilisation du modèle semble plus hasardeuse.

Les relations structures-activités concernent les interactions physiques et chimiques d'un composé ou de ses métabolites avec la cible, et donc l'activité d'une substance chimique ; on peut donc admettre, comme le propose le modèle, d'identifier les structures susceptibles d'interagir sur les cibles biologiques, mais l'hypothèse d'une prévision fiable de l'ensemble des actions et leurs conséquences biologiques n'est pas acceptable.

L'étude du modèle QSAR a conduit à la mise en place d'une méthodologie de recherche de molécules actives sur un récepteur biologique qu'il s'agisse d'agonistes ou d'antagonistes, connue sous le nom de « Drug Design » mais cette approche n'a pas – loin s'en faut – connu le succès escompté. Il faut donc être très prudent dans ce type d'analyse.

Plusieurs exemples peuvent être rappelés :

- dans le domaine de la Nutrition et des Vitamines, le changement de position d'un radical hydroxyde (de C1 en C24) de la vitamine D3 (Calcitriol) inverse totalement l'effet sur les flux de calcium au niveau de l'os notamment, mais n'a pas d'effet sur l'absorption intestinale du calcium ;
- dans le cas des produits phytosanitaires, il existe des exemples où seul un isomère présente une activité insecticide ou fongicide. Qu'en est-il de la prédiction dans ces situations ?
- dans le domaine des substances médicamenteuses, notamment des stéroïdes, un changement de position ou simplement d'isomérisation spatiale d'un hydroxyle conduit à des molécules et des activités très différentes ; comment alors prévoir que le métabolisme d'un phénol-3-stéroïde conduit à des catéchols susceptibles de former des adduits à l'ADN, alors que d'autres 3 hydroxystéroïdes n'est formé pas, qu'un 19-nor androgène possède une activité oestrogénique...
- un dernier exemple pour illustrer les limites d'une approche fondée sur le QSAR est celui du 2-acétylamino-2-fluorène qui s'avère être cancérigène chez l'animal alors que le 5-acétylamino-2-fluorène ne présente pas cet effet.

Dans chaque famille de composés naturels ou artificiels, on peut identifier des exceptions à l'action générale des composés.

Dans le domaine de la prédiction, la prévision du devenir métabolique d'une substance qui est tributaire de multiples facteurs (espèce animale, statut nutritionnel, hormonal, etc....) semble déraisonnable, à fortiori si l'on tient compte du nombre de métabolites majeurs ou mineurs : prédire

ceux qui seront non toxiques apparaît encore plus difficile ; au-delà du strict métabolisme, il faudrait aussi prendre en compte les dégradations de la molécule et les éventuels produits néoformés. Les propositions relatives aux « substances présentant des similitudes structurales et qui sont donc susceptibles d'induire des effets similaires » et celles contenant la prédiction métabolique doivent donc être considérées avec prudence.

En ce qui concerne les classes de substances chimiques, il faudrait individualiser les substances cancérogènes, mutagènes, tératogènes et les perturbateurs endocriniens dont les effets à très long terme et à de très faibles doses sont difficiles à évaluer (infertilité masculine par exemple).

L'adoption d'un seuil arbitraire de 1,5 µg/personne/jour devrait être consolidée par de multiples simulations sur des classes de composés différentes (arômes, auxiliaires technologiques, additifs et MCDA) afin de mettre en perspective divers contaminants et autres produits phytosanitaires (comparaison avec les DJA). Des remarques similaires sur les doses pourraient être proposées dans le cas des substances présentant des propriétés allergiques

4 Conclusions

4.1 Comités d'experts spécialisés « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques », « Matériaux au contact des aliments » et « Eau »

Jusqu'à présent, il n'existe pas de consensus scientifique concernant la validité de la méthodologie QSAR pour prédire le risque cancérogène associé aux substances chimiques. Néanmoins, les connaissances scientifiques cumulées sur les relations structure-activité de la méthodologie SAR permettent de prédire avec de plus en plus de validité les mécanismes de toxicité de certaines catégories des substances, notamment les cancérogènes, caractérisées pour certaines par des groupements fonctionnels et des structures chimiques particuliers ainsi que des arrangements atomiques spécifiques (ex. les nitrosamines, les carbamates, les époxydes, les amines aromatiques, les HAP, les aflatoxines). L'accumulation des connaissances scientifiques dans ce domaine a permis d'ailleurs, dans le cadre d'une stratégie d'analyse récemment présentée, de proposer une approche structure-activité pour l'évaluation du potentiel perturbateur endocrinien des substances chimiques (16). En outre, dans le cas des additifs alimentaires, les relations structure-activité forment la base de l'établissement des doses journalières admissibles (DJA) de groupe (24), notion qui est largement reconnue dans le domaine de la toxicologie.

Ainsi la structure chimique demeure un facteur important de décision, par exemple, lorsque des substances doivent subir des tests cancérogènes *in vivo*.

Il convient de préciser que la définition d'un seuil de préoccupation toxicologique ne repose pas sur l'unique fait que la grande majorité des évaluations toxicologiques de substances chimiques dans les denrées alimentaires conduisent à l'établissement des doses admissibles ou tolérables pour l'homme supérieures à la valeur de 1,5 µg/personne/jour. Cette définition repose sur les résultats expérimentaux cumulés chez l'animal sur des nombreuses substances présentant des effets toxiques non-cancérogènes et des substances présentant des effets cancérogènes et sur une approche probabiliste d'appréciation de l'excès de risque d'apparition d'un cancer sur 1 million d'individus (10^{-6}), qui ont abouti à proposer la valeur d'un seuil de préoccupation toxicologique. De plus, l'appréciation de la non génotoxicité sur la base des structures d'alerte, proposée dans ce rapport, écarterait l'éventuelle application d'un seuil de préoccupation toxicologique aux substances présentant un potentiel genotoxique.

En ce qui concerne l'application de seuils d'exposition, dont le seuil préoccupation toxicologique, utilisés dans le cadre des arbres de décision, les fondements scientifiques sur lesquels ils ont été établis sont valides et acceptables dans le cas de certaines catégories des substances non-génotoxiques présentes à très faible concentration.

Il convient de souligner que l'évaluation de substances présentes à très faible concentration dans les aliments, incluant la notion de seuil de préoccupation toxicologique, doit être considérée comme un outil d'évaluation et non pas comme un substitut à une évaluation toxicologique classique de substances chimiques. Son application n'est envisageable que dans le cas de substances chimiques présentes à très faible concentration et pour lesquelles les données spécifiques sur le métabolisme et/ou la toxicité disponibles à ce jour, seraient insuffisantes pour conduire une évaluation toxicologique classique.

L'application d'un seuil de préoccupation toxicologique de 1,5 µg/personne/jour pourrait conduire à des interprétations erronées sur le véritable rôle d'un seuil de préoccupation toxicologique dans le cadre de l'évaluation des risques sanitaires alimentaires. Il convient de préciser donc qu'un niveau d'exposition à une substance qui ne dépasserait pas la valeur d'exposition établie pour un seuil ne doit pas être interprété comme une acceptation *de facto* à l'emploi de toute substance chimique dans les aliments. Il est rappelé que toute utilisation de substances chimiques dans une denrée alimentaire doit faire l'objet d'une procédure d'évaluation, qui pourrait au cas par cas, envisager l'application des seuils de préoccupation toxicologique dont celui de 1,5 µg/jour/personne.

En outre, il est nécessaire de rappeler que toute substance chimique dans les denrées alimentaires, doit répondre à un besoin technologique réel qui ne saurait être obtenu par une autre substance déjà évaluée. En ceci ce rapport rejoint les objectifs définis dans le Livre Blanc de la Commission européenne (6) qui vise à réduire l'utilisation incontrôlée de substances chimiques.

Le maintien d'un niveau d'exposition inférieur à la valeur d'un seuil de préoccupation toxicologique de quelque niveau qu'il soit, n'écarte pas le besoin de réaliser des études toxicologiques complémentaires si l'organe d'évaluation le considère nécessaire.

L'utilisation des seuils de préoccupation toxicologique faisant jouer un rôle essentiel à l'estimation de l'exposition dans la procédure d'évaluation de risque par arbre de décision, il s'avère nécessaire de réaliser des travaux de validation des méthodes d'estimation de l'exposition du type de celles citées dans ce rapport.

Les substances présentant les groupements fonctionnels indicatifs d'une activité génotoxique doivent faire l'objet d'études plus approfondies (ex. évaluation dans une batterie de tests de génotoxicité). En outre, les substances présentant des similitudes chimiques avec celles pour lesquelles un effet cancérigène, endocrinien, allergisant ou neurotoxique aurait été démontré par d'autres études toxicologiques, devraient être exclues d'une évaluation de ce type. De même, il ne paraît pas envisageable d'appliquer ce type d'évaluation aux métaux lourds.

Cette procédure d'évaluation, n'est pas une procédure figée mais dynamique qui doit pouvoir s'adapter aux plus récentes découvertes dans tous les domaines impliqués dans l'évaluation des risques sanitaires. L'application d'un tel outil d'évaluation permettrait que le temps et les ressources disponibles soient mieux dirigés et concentrés sur l'évaluation de substances dans les aliments qui présenteraient un potentiel toxicologique plus préoccupant.

En outre, il conviendrait d'encourager les travaux de recherche méthodologique permettant de valider les méthodes d'estimation des expositions utilisées en général et particulièrement lorsque la notion de seuil de préoccupation toxicologique serait appliquée pour déterminer les priorités d'évaluation. Ces travaux permettraient de mieux identifier les limites des approches rapides d'estimation des expositions préconisées dans les différents domaines dans lesquels un seuil de préoccupation toxicologique est justifié ou non.

Selon les sujets abordés, ces travaux méthodologiques permettraient de définir un nombre de questions clés pour chaque champ d'application qui permettraient de mieux s'assurer de la pertinence de l'approche. Par exemple, pour les arômes, une des questions clés permettant de juger de la pertinence de l'approche simplifiée pour calculer les expositions est de confirmer l'appréciation qu'il y ait moins de 10% de consommateurs de ces substances.

Les propositions d'application des seuils d'exposition et de préoccupation toxicologique émanant des CES Additifs, arômes et auxiliaires technologiques, Eaux et Matériaux au contact des aliments, sont reproduites dans le chapitre suivant.

4.2 Comité d'experts spécialisé « Résidus et contaminants chimiques et physiques »

Le Comité d'experts spécialisé Résidus et contaminants chimiques et physiques rejoint les réserves sur le modèle émises dans ce rapport : prédiction à une famille structurale délimitée et pour un seul effet toxique ; incertitudes quant à l'estimation du potentiel toxique.

Le Comité d'experts spécialisé « Résidus et contaminants chimiques et physiques » :

- ne saurait admettre, comme dans ce rapport, que « les fondements scientifiques sur lesquels ont été établis les seuils de préoccupation toxicologiques sont valides et acceptables » ;
- ne saurait admettre non plus, par principe, que puisque les évaluations toxicologiques existantes conduisent à des doses admissibles supérieures à celles auxquelles conduirait l'application d'un seuil arbitraire de 1,5 cette dose puisse en être validée pour des substances considérées comme non génotoxiques, surtout si cette évaluation de la non génotoxicité s'appuie sur des structures d'alerte identifiées ;
- malgré l'intérêt qu'il peut présenter dans certains cas, n'envisage aucune application possible de ce principe « seuil de préoccupation toxicologique » pour l'évaluation du risque alimentaire lié aux résidus et contaminants de sa compétence.

5 Propositions d'application

5.1 Cas des arômes alimentaires

La procédure d'évaluation utilisée par le JECFA et par le CSAH pour l'évaluation de substances aromatisantes fait appel à un arbre de décision qui inclut, entre autres décisions, l'application des seuils de préoccupation toxicologique.

Le JECFA, de son côté considère que plusieurs raisons renforcent l'idée que l'application d'un seuil de préoccupation toxicologique de 1,5 µg/personne/jour pour l'évaluation des arômes est une approche très conservatrice:

(a) les critères de décision sont fondés sur des données de cancérogenèse chez l'animal qui sont considérées comme des effets critiques sensibles et pertinents pour l'homme ;

(b) la banque de données à partir de laquelle la valeur du seuil de préoccupation toxicologique a été établie, représente un scénario du type « cas extrême » car elle contient uniquement des résultats provenant de substances reconnues cancérogènes administrées pendant une grande partie de la durée de vie de l'animal aux doses maximales tolérables ;

(c) la méthodologie utilisée pour calculer la distribution de risques de 10^{-6} , à partir de laquelle la valeur de 1,5 µg par jour a été établie, est conservatrice car elle fait appel à une extrapolation linéaire, à partir des doses les plus basses de TD_{50}^{25} pour chaque substance ;

(d) il est très peu probable qu'une substance aromatisante évaluée de manière non-classique montre des effets cancérogènes-génotoxiques, principalement en raison des faibles doses d'utilisation envisagées, du comportement physico-chimique particulier aux arômes (ex. molécules volatiles) et de par l'utilisation systématique de la méthodologie relation structure-activité, qui inclut la détection de structures d'alerte avec un potentiel génotoxique ;

(e) la plupart des substances aromatisantes que l'on peut retrouver spontanément dans la nature sont déjà consommées à des concentrations supérieures à la valeur du seuil de préoccupation toxicologique (1,5 µg/jour/personne) à partir des produits naturels (ex. fruits et légumes). Ainsi, leur consommation en tant que substances aromatisantes ajoutées aux denrées alimentaires ne devrait donc pouvoir induire un risque supplémentaire;

(f) parce qu'à ce jour, les données disponibles montrent que les autres effets critiques identifiés tels que la toxicité sur le développement, la neurotoxicité ou l'immunotoxicité apparaissent à des niveaux d'exposition supérieurs à la valeur de 1,5 µg par jour.

La Commission européenne de son côté considère, d'après le Règlement (CE) 1565/2000 énonçant les mesures nécessaires à l'adoption d'un programme d'évaluation des substances aromatisantes existantes, article 2, troisième alinéa (39) ; que cette évaluation peut être réalisée en suivant la procédure par arbre de décision du JECFA, sans considérer toutefois l'application d'un seuil de préoccupation toxicologique de 1,5 µg par personne et par jour pour les substances génotoxiques. Cette décision de la Commission européenne provient du positionnement du CSAH. En effet, interrogé sur les fondements scientifiques ayant abouti à l'établissement du concept de seuil de préoccupation toxicologique et sur la pertinence de l'application d'un seuil de 1,5 µg/personne/jour pour l'évaluation des substances génotoxiques cancérogènes, le CSAH a conclu qu'il existe un niveau d'exposition à des substances non cancérogènes-génotoxiques dans le régime alimentaire en dessous duquel on peut s'attendre à une absence d'effets toxiques pour le consommateur ; toutefois concernant la pertinence de l'application d'un SEPT pour les substances cancérogènes qui agiraient par un mécanisme génotoxique, le CSAH ne s'est pas prononcé et a souhaité examiner de données supplémentaires afin de parvenir à une décision finale (44).

En conséquence, le Comité d'experts spécialisé Additifs, arômes et auxiliaires technologiques (CES AAAT) considère que l'application d'un arbre de décision qui inclurait un seuil de préoccupation toxicologique de 1,5 µg/personne/jour (Figure I) pour l'évaluation des substances aromatisantes est acceptable.

5.2 Cas des auxiliaires technologiques

Par définition, l'utilisation d'un auxiliaire technologique ne devrait pas donner lieu à la présence, dans le produit final, de résidus ou de dérivés de cet auxiliaire, sauf lorsque leur présence est

²⁵ TD_{50} = dose chronique d'un cancérogène qui diminue de moitié la probabilité chez l'animal, de ne pas développer des tumeurs pendant toute la durée de vie moyenne de l'espèce (38).

techniquement inévitable (10). Il est donc raisonnable de prévoir que le niveau d'exposition quotidienne à un auxiliaire technologique, si elle existe, doit être particulièrement bas.

Pour une grande majorité des auxiliaires technologiques, qui à l'origine sont des additifs alimentaires, les données toxicologiques sont disponibles et suffisantes pour réaliser une évaluation toxicologique classique et établir des DJA.

Néanmoins, pour d'autres auxiliaires technologiques qui sont utilisés dans la préparation de denrées alimentaires, pour certains à une grande échelle, les données toxicologiques disponibles sont insuffisantes ou très incomplètes pour réaliser une telle évaluation.

Cette situation conduit le Comité d'experts spécialisé Additifs, arômes et auxiliaires technologiques (CES AAAT) à considérer que, à l'instar du cas prévu pour les substances aromatisantes par la Commission européenne et par le JECFA, l'évaluation de certains auxiliaires technologiques, notamment ceux qui n'ont pas des données toxicologiques complètes, pourrait être faite par l'intermédiaire d'un arbre de décision (Figure VII).

Il est prévu dans cet arbre de décision, que dans le cas d'un dépassement de valeurs seuil, d'autres interrogations spécifiques qui concerneraient les résultats d'études toxicologiques classiques conduites avec des substances semblables, soient pris en considération afin de s'assurer de l'innocuité de l'auxiliaire technologique. En outre, l'évaluation de certains auxiliaires technologiques par arbre de décision devrait considérer les produits nouveaux apparus à la suite du traitement technologique que l'auxiliaire aurait subi ainsi que ceux apparus à la suite de la réactivité de l'auxiliaire technologique avec les constituants de l'aliment. En effet, ces produits nouveaux peuvent présenter de dangers pour le consommateur et leur risque doit donc être évalué en même temps que l'auxiliaire technologique.

La pertinence de l'évaluation de certains auxiliaires technologiques par l'intermédiaire d'un arbre de décision, est confortée par le fait que les DJA les plus basses établies par la Commission européenne pour les additifs alimentaires autorisés (canthaxantine et sels de ferrocyanure) qui correspondent à une exposition journalière admissible d'environ 1,8 mg pour une personne de 60 kg, restent supérieures aux seuils d'exposition établis dans l'arbre de décision pour les substances de classe II (0,54 mg/personne/jour) et III (0,09 mg/personne/jour), qui sont les plus exigeants.

Si l'on assume que le seuil de 1,5 µg/personne/jour est une valeur d'exposition acceptable pour un auxiliaire technologique, cela suggérerait une exposition journalière acceptable de $1,5 \times 10^{-4}$ mg/jour pour une personne de 60kg, c'est à dire $2,5 \times 10^{-5}$ mg/kg p.c./jour²⁶. Or, cette valeur reste très en deçà de la totalité des DJA actuellement en vigueur pour les 372 additifs alimentaires autorisés en Europe et qui ont fait l'objet d'études toxicologiques classiques.

Les DJA les plus basses établies par la Commission européenne et par la Commission du Codex Alimentarius respectivement pour les sels de ferrocyanure (0,026 mg/kg p.c.) et pour les huiles minérales de moyenne et basse viscosité (0,01 mg/kg p.c.), qui correspondent à une exposition journalière admissible respectivement d'environ 1,8 mg et 0,6 mg pour une personne de 60 kg, restent à des niveaux d'exposition au moins 10 000 fois et 4 000 fois supérieur à la valeur d'un seuil de 1,5 µg/personne/jour.

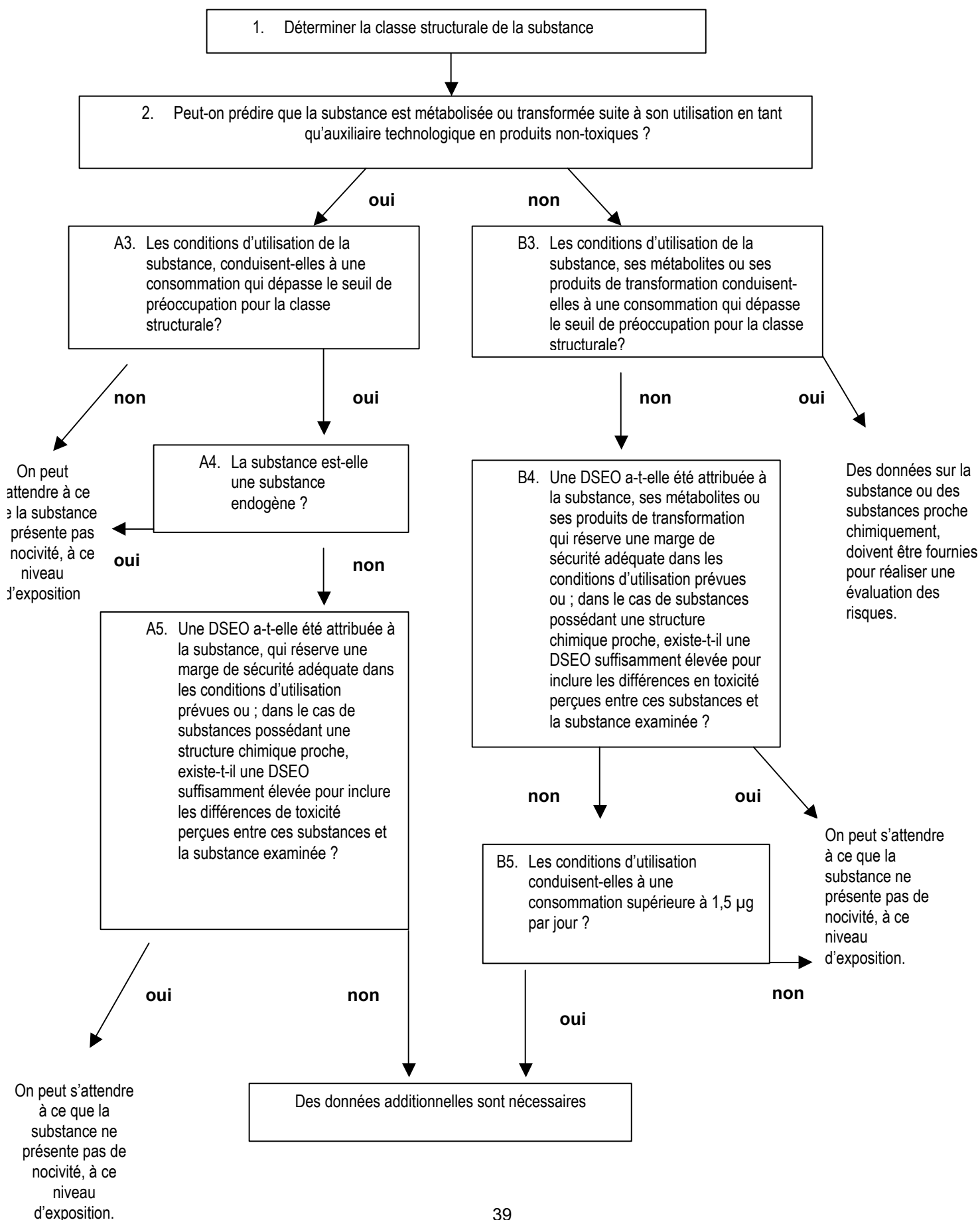
Ces marges d'exposition apparaissent donc assez élevées pour s'assurer que l'évaluation de certains auxiliaires technologiques au travers d'un arbre de décision de cette nature ne conduirait pas à une évaluation moins sévère que celle qui serait réalisée par une évaluation de risques classique.

Le CES AAAT rappelle toutefois que ce type d'évaluation ne concerne pas les substances présentant un caractère génotoxique et qu'en conséquence, les auxiliaires technologiques qui présenteraient des groupements fonctionnels indicatifs d'une telle activité, devront faire l'objet d'études plus approfondies (ex. évaluation dans une batterie de tests de génotoxicité) avant leur éventuel passage dans un arbre de décision.

Le CES AAAT connaît les travaux en cours au sein de l'Afssa au sujet des Lignes directrices pour l'élaboration d'un dossier de demande d'avis relatif à l'emploi d'un auxiliaire technologique. L'arbre de décision pour l'évaluation de certains auxiliaires technologiques est complémentaire et n'entre pas en contradiction avec ces Lignes directrices. Cette complémentarité conduit à ce que l'application ou non d'un arbre de décision pour l'évaluation d'un type particulier d'auxiliaires technologiques, sur la base d'un dossier préparé d'après ces Lignes directrices, resterait *in fine* le choix de l'organisme d'évaluation.

²⁶ $1,5 \mu\text{g}/\text{jour} ? \quad 1,5 \mu\text{g}/60 \text{ kg}/\text{jour} = 0,025 \mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{jour}$ ou $2,5 \times 10^{-5} \text{ mg}/\text{kg p.c.}/\text{jour}$

Figure VII. Procédure d'évaluation proposée par le CES AAAT pour l'évaluation de certains auxiliaires technologiques. Adapté de (31).



5.3 Cas des additifs alimentaires

Jusqu'à présent, hormis la US FDA, l'application d'un seuil ou des seuils de préoccupation toxicologique lors de l'évaluation des additifs alimentaires n'a pas été généralisée.

Au niveau européen, le CSAH évalue ces substances à partir d'un dossier toxicologique complet qui doit être constitué par des études toxicologiques, cinétiques et de métabolisme conduites selon des protocoles d'essais reconnus (45). Au niveau international, le JECFA prend également en compte pour l'évaluation d'additifs alimentaires les données toxicologiques provenant d'études à court, moyen et long terme ainsi que des études cinétiques et de métabolisme (49) réalisées selon des protocoles reconnus.

Le Comité d'experts spécialisé Additifs, arômes et auxiliaires technologiques (CES AAAT) considère donc que dans le cas des additifs alimentaires dont les DJA sont beaucoup plus élevées, l'introduction de la notion de seuil de préoccupation toxicologique ne serait pas utile pour leur évaluation toxicologique.

5.4 Cas des emballages alimentaires

5.4.1 Matériaux au contact d'aliments et boissons

Un des domaines d'évaluation où l'application d'une notion de seuil de préoccupation toxicologique est la plus avancée est bien celui de l'emballage alimentaire. Les emballages alimentaires sont constitués de matériaux aptes au contact alimentaire, fabriqués à partir de substances répertoriées sur des listes positives, particulièrement dans le cas des plastiques. Leur innocuité est évaluée par une procédure spécifique faisant appel à des études de migration (dans des aliments ou dans des liquides simulateurs) et à des études de toxicité.

Comme indiqué précédemment dans ce rapport, la notion de seuil de préoccupation toxicologique applicable aux substances provenant des matériaux au contact des denrées alimentaires est devenue un seuil réglementaire depuis 1995 aux Etats Unis. Cette notion conduit la US FDA à ne pas exiger de données de toxicité approfondies pour les substances provenant des matériaux au contact des aliments (a) qui ne dépasseraient pas un seuil de migration aboutissant à une exposition supérieure à 1,5 µg par personne par jour et (b) pour lesquelles il peut être démontré par l'application d'un modèle de relation structure-activité l'absence de structures d'alerte indicatrices d'une activité génotoxique (14).

Une approche semblable a été retenue par le CSHPF (3) et par le Conseil de l'Europe (8). Le Conseil de l'Europe a estimé que les substances dont la migration est inférieure à 0,5 µg par kg d'aliment ou de simulateur n'étaient pas prioritaires pour l'évaluation et qu'uniquement très peu de données étaient nécessaires pour l'évaluation de ces substances (8). Le CSHPF a défini les informations à fournir pour la constitution des dossiers de demande d'autorisation d'emploi d'une nouvelle substance (3). L'avis du CSHPF prévoit que pour les substances dont le niveau d'exposition théorique, calculé sur la base de valeurs de migration et d'une consommation totale d'aliments de 1 kg/jour (voir dans ce rapport la section Considérations d'exposition. Les matériaux au contact des denrées alimentaires) est inférieur à 0,5 µg/personne/jour, *les pétitionnaires qui peuvent fournir les éléments caractérisant l'absence de potentiel cancérigène selon un modèle de relation structure-activité reconnu sont dispensés des études démontrant l'absence de potentiel génotoxique* (3). Quant à l'Autorité européenne de sécurité sanitaire (EFSA)²⁷ elle ne propose pas actuellement de priorisation dans l'évaluation de ces substances.

Si l'on considère qu'un tiers de l'exposition provenant des 3 kg d'aliments solides et liquides consommés en moyenne par jour et par personne dans les pays développés²⁸, correspond aux aliments emballés, la valeur de 0,5 µg par kilogramme d'aliment retenu par le Conseil de l'Europe et la valeur de 0,5 µg/personne/jour retenu par le CSHPF sont équivalentes et correspondent à une exposition alimentaire (tous aliments confondus) de 1,5 µg/personne/jour.

Le Comité d'experts spécialisé Matériaux au contact des aliments (CES MCDA) considère donc que la valeur de 1,5 µg/personne/jour est actuellement une valeur seuil sur laquelle se rejoignent plusieurs organismes chargés de l'évaluation des risques des matériaux au contact des aliments. Au-dessous

²⁷ http://www.efsa.eu.int/index_en.html

²⁸ Valeur proposée par l'Organisation Mondiale de la Santé.

de cette valeur, l'absence de potentiel génotoxique doit être démontrée par un modèle de relation structure-activité mais des essais toxicologiques complémentaires peuvent être demandés.

Dans ces conditions, l'introduction d'un seuil de préoccupation toxicologique de 1,5 µg par personne et par jour qui couvre l'exposition journalière (3 kg d'aliments emballés et non-emballés), est cohérente avec les procédures actuelles utilisées en France pour l'évaluation des substances provenant des matériaux au contact des aliments. Enfin, le CES MCDA souligne qu'un seuil de préoccupation toxicologique ne s'applique pas aux substances génotoxiques.

5.4.2 Matériaux au contact de l'eau

Le Comité d'experts spécialisé Eaux considère qu'actuellement en France, la conformité des matériaux placés au contact de l'eau repose sur deux principes complémentaires :

1. Tout d'abord, le matériau, selon sa nature, doit être constitué de substances figurant sur l'une des listes positives de référence ou être conforme aux annexes I et II de l'Arrêté du 29 mai 1997 ;
2. Si cette condition est remplie, il peut alors être procédé pour les matériaux organiques à des essais de migration dont les résultats doivent être conformes aux critères d'acceptabilité réglementairement définis.

Dans le cas où l'une des substances entrant dans la composition du matériau (ou dans l'une des préparations commerciales incluses dans le matériau) ne figurerait pas dans les listes positives, un dossier est alors soumis pour avis au Comité d'experts spécialisé Eau (AFSSA / CSHPF) qui décide de l'opportunité de faire procéder ou non à la réalisation d'essais de migration. Ce dossier comporte outre des renseignements généraux et sur les caractéristiques physico-chimiques de la substance, des renseignements de nature toxicologique. Une autorisation limitée d'emploi d'une substance non inscrite sur les listes positives peut être demandée à titre dérogatoire pour un matériau déterminé. La nature des renseignements toxicologiques à fournir dans ce cadre dépend du niveau de migration de la substance dans l'eau. L'évaluation de la migration est réalisée soit par une analyse spécifique dans l'eau, soit par le calcul de la migration théorique ; elle conduit à deux situations possibles :

1. La migration du constituant est supérieure à 1 µg/L et inférieure à 50 µg/L :
Les renseignements toxicologiques à fournir sont identiques à ceux nécessaires lors d'une demande d'ajout d'une nouvelle substance à l'une des listes positives à savoir :
 - trois études de génotoxicité : un essai de mutation génique sur bactéries, un essai de mutation génique sur culture de cellules de mammifères et un essai d'aberration chromosomique sur culture de cellules de mammifères.
2. Résultats des essais de migration du constituant dans l'eau compris entre 50 et 5 000 µg/L :
 - trois études de génotoxicité (voir plus haut) et une étude de toxicité par voie orale à 90 jours.
3. La migration du constituant est inférieure à 1 µg/L :
 - lorsqu'il peut être montré que la migration de la substance est, en toute circonstance, inférieure à 1 µg/L, à titre dérogatoire une simple revue bibliographique des connaissances toxicologiques disponibles, cherchant notamment à identifier d'éventuels essais de génotoxicité, est demandée.

On peut donc noter que pour les matériaux au contact des eaux, la valeur de 1 µg/L constitue actuellement une valeur seuil en deçà de laquelle aucune investigation toxicologique complémentaire n'est demandée. Cette valeur, bien que retenue sur des considérations analytiques (niveau de détection) joue de fait un rôle similaire à celui d'un seuil de préoccupation toxicologique et se situe à un niveau très proche de ce seuil (0,75 µg par jour si l'on considère que la moitié des apports quotidiens sont liés à l'eau). L'introduction d'un seuil de préoccupation toxicologique se situant à 1,5 µg par jour paraît donc envisageable et son introduction modifiera peu l'approche actuellement utilisée.

Il faut cependant noter que pour quelques substances susceptibles d'être présentes dans une formulation de matériaux destinées au contact de l'eau, les limites de qualité des eaux de distribution peuvent éventuellement être inférieures au seuil de préoccupation toxicologique de 1,5 µg/personne/jour (acrylamide 0,1 µg/L, épichlorhydrine 0,1 µg/L et chlorure de vinyle 0,5 µg/L).

6 Bibliographie

- (1) Ashby, J. Tennant, R.W. (1991). Definitive relationships among chemical structure, carcinogenicity and mutagenicity for 301 chemicals tested by the US NTP. *Mutation Research* 257, 229-306.
- (2) Ashby, J. Tennant, R.W. (1998). Chemical structure, Salmonella mutagenicity and extent of carcinogenicity as indicators of genotoxic carcinogenesis among 222 chemicals tested in rodents by the US NCI/NTP. *Mutation Research* 204, 17-115.
- (3) Bulletin Officiel de la DGCCRF (1998)., 28 février 1998. Avis du CSHPF relatif aux matériaux au contact des denrées alimentaires.
- (4) Beck B.D., Conolly R.B.; Dourson M.L., Guth D., Hattis D., Kimmel C., Lewis S.C. (1993). Symposium overview, Improvements in quantitative noncancer risk assessment. *Fundamental and Applied Toxicology* 20, 1-14.
- (5) Cahier des charges pour le choix d'un couple Nutriments-Aliments Vecteur Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Juillet 2003.
- (6) CCE (2001). Livre Blanc. Stratégie pour la future politique dans le domaine des substances chimiques. Commission des Communautés Européennes. Bruxelles, 27.2.2001. COM(2001) 88 final.
- (7) Contrera, J.F., Matthews, E.J. Benz, R.D. (2003) Predicting the carcinogenic potential of pharmaceuticals in rodents using molecular structural similarity and E-state indices. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 38: 243-259.
- (8) Council of Europe (2001). Guidelines concerning the safety evaluation of substances to be used in food contact materials and articles covered by Council of Europe resolutions. Document submitted by the French delegation (04.05.2001). RD 4/1-39# REV.
- (9) Cramer G.M., Ford R.A. and Hall R.L. (1978). Estimation of toxic hazard – a decision-tree approach. *Food and Cosmetic Toxicology* 16, 255-276.
- (10) Décret n° 2001-725 du 31 juillet 2001. JO 12738, 5 août 2001.
- (11) Douglass J.S., Barraj L.M., Tennant D.R., Long W.R., Chaisson C.F. (1997) Evaluation of the budget method for screening food additive intakes. *Food Add Cont. Nov-Dec;14 (8):791-802.*
- (12) FDA (1982). Toxicological principles for the safety assessment of direct food additives and color additives used in food. Red Book. US Food and Drug Administration, Bureau of foods, Washington DC.
- (13) FDA (1993) Draft. Toxicological principles for the safety assessment of direct food additives and color additives used in food. Redbook II. US Food and Drug Administration. Center for food safety and applied Nutrition, Washington DC.
- (14) Federal Register (1995). Food additives: Threshold of regulation for substances used in food-contact articles. FDA, 21 CFR parts 5, 25, 170, 171, 174. Docket N° 77P-0122 & 92N-0181.
- (15) Frawley J.P. (1967). Scientific evidence and common sense as a basis for food-packaging regulations. *Food and cosmetics Toxicology* 5, 293-308.
- (16) Gelbke H.P., Kayser M., Poole A. OECD test strategies and methods for endocrine disruptors. *Toxicology* 205: 17-25, 2004.
- (17) Gold L.S., Sawyer C.B., Magaw R., Backman G.M., de Veciana M., Levinson R., Hooper N.K., Havender W.R., Bernstein L., Peto R., Pike M. and Ames B.M. (1984) A carcinogenic potency database of the standardized results of animal bioassays. *Environmental Health Perspectives* 58, 9-319.
- (18) Grönlund, M.H. (1995). An introduction to health risk assessment of chemicals. KEMI Report No 6/95. The Swedish National Chemicals Inspectorate.
- (19) Hall, R.L., Ford, R.A. (1999). Comparison of two methods to assess the intake of flavouring substances. *Food Additives and Contaminants* 16, 481-495.
- (20) Hallas-Moeller T. (1995) Using the budget method as a quick screening method identifying food additives for which further monitoring is not warranted on health grounds. Report for the SCF.
- (21) Hoel D.G., Portier C.J. (1994) Nonlinearity of dose response functions for carcinogenicity. *Environmental Health Perspectives* 102, 109-113.
- (22) ILSI (1999). Threshold of toxicological concern for chemical substances present in the diet. Report of a workshop held on 5-6 October 1999. International Life Sciences Institute (ILSI). Europe Report Series.
- (23) Flynn A, Moreiras O, Stehle P, et al. (2003) Vitamins and minerals: a model for safe addition to foods. *Eur J Nutr.* 42(2), 118-30.
- (24) IPCS (1987). Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Environmental Health Criteria 70. International Programme on Chemical Safety. World Health Organisation.
- (25) IPCS (2001). Inventory of IPCS and other WHO pesticide evaluations and summary of toxicological evaluations performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR). Evaluations through 2001.
- (26) IPCS (2002). Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. International Programme on Chemical Safety. World Health Organisation.
- (27) Krewski D., Szyzkowicz M., Rosenkranz H. (1990) Quantitative factors in chemical carcinogenesis : Variation in carcinogenic potency. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 12, 13-29.
- (28) Kroes R., Galli C., Munro I., Schilter B., Tran L.A., Walker R. and Würtzen G. (2000). Threshold of toxicological concern for chemical substances present in the diet: A practical tool for assessing the need for toxicity testing. *Food and Chemical Toxicology* 38, (Nr. 2-3) 255-312.
- (29) Lambe J., Cadby P., Gibney M. (2002) Comparison of stochastic modelling of the intakes of intentionally added flavouring substances with theoretical added maximum daily intakes (TAMDI) and maximized survey-derived daily intakes (MSDI). *Food Addit Contam* 19(1), 2-14.
- (30) Munro I.C. (1990). Safety assessment procedures for indirect food additives: an overview. Report of a workshop. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 12, 2-12.
- (31) Munro, I.C. (1996). A procedure for the safety evaluation of flavouring substances. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants in food. Annex 5. WHO Food Additives Series: 35, Geneva.
- (32) Munro I.C, Shubik P., Hall R. (1998) Principles for the safety evaluation of flavouring substances. *Food and Chemical Toxicology* 36, 529-540.
- (33) Munro I.C, Hlywka J.J, Kennepohl E.M. (2002) Risk assessment of packaging materials. *Food Additives and Contaminants* 19,

Supplement, 3-12.

- (34) NRC (1983). Risk assessment in the federal government : Managing the process. Committee on the Institutional Means for assessment of risk to public health, Commission of Life Sciences, National Research Council (NRC) National Academy Press, Washington DC.
- (35) OECD (1993). OECD Guidelines for the testing of chemicals. Vols 1 & 2. Organisation for Economic Cooperation and Development. Paris.
- (36) Oser B.L., Hall R.L (1977). Criteria employed by the expert panel of FEMA for the GRAS evaluation of flavouring substances. *Food and Cosmetic Toxicology* 15, 457.
- (37) Peto R., Gray R., Brantom P., Grasso T. Effets on 4080 rats of chronic ingestion of *N*-Nitrosodiethylamine or *N*-Nitrosodimethylamine: A detailed dose-response study. *Cancer Research* 51, 6415-6451, 1991.
- (38) Peto R., Pike M.C., Bernstein L., Gold L.S. Ames B.N. (1984). The TD50 : A proposed general convention for the numerical description of the carcinogenic potency of chemicals in chronic-exposure animal experiments. *Environmental Health Perspectives* 58, 1-8.
- (39) Règlement (CE) N° 1565/2000 de la Commission du 18 juillet 2000. JO L 180/8.
- (40) Rulis A.M. (1989) Establishing a threshold of regulation . In : Risk assessment in setting national priorities. Bonin & Stevenson (Eds) Plenum Press, NY.
- (41) Rulis A.M.(1986). De minimis and the threshold of regulation. In : Food protection technology, current and projected technologies for food protection – Recommendations and Implementation. Felix CW (Ed), pp29-37, Chelsea MI.
- (42) Sawyer C., Peto R., Bernstein L., Pike M. (1984) Calculation of carcinogenic potency from long-term animal carcinogenesis experiments. *Biometrics* 40, 27-40.
- (43) SCF (1995). Scientific Committee for Food Reports of the Scientific Committee for Food. 37th series.
- (44) SCF (1996). Scientific Committee for Food. Annex VII to document III/5557/96. CS/PLEN/GEN/34-Final. CS/pm/2698-Final. May 1996. Response to request from the Commission for SCF opinion on the scientific basis of the concept of threshold of regulation in relation to food contact materials.
- (45) SCF (2001). Scientific Committee for Food. SCF/CS/ADD/GEN/26 Final. July 2001. Guidance on submissions for food additive evaluations by the scientific committee on food.
- (46) Scientific Steering Committee of the Health and Consumers Protection Directorate General (DG SANCO). The future of risk assessment in the European Union. The second report on the harmonisation of risk assessment procedures. April 2003.
- (47) Volatier, J-L. Coordonateur (2000). Enquête INCA – Individuelle et nationale sur les consommations alimentaires. Ed. Tec & Doc, Paris.
- (48) Weil C.S., McCollister D.D. (1963). Relationship between short and long-term feeding studies designing an effective toxicity test. *Agricultural Food Chemistry* 11, 486-491.
- (49) WHO (1987). Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Environmental Health Criteria N°70. World Health Organization. Geneva.
- (50) WHO (1989) Technical Report Series No. 776. Geneva.
- (51) WHO (1995) Technical Report Series No. 859. Geneva.
- (52) WHO (1997) Technical Report Series No. 868. Geneva.
- (53) WHO (1999) Technical Report Series No. 884. Geneva.
- (54) WHO (2000) Technical Report Series No. 891. Geneva.
- (55) WHO (2002) Technical Report Series No. 909. Geneva.
- (56) WHO (2004) Technical Report Series No. 922. Geneva.
- (57) WHO Food Additives Series 40 (1998) Annex 5. Application of a threshold of toxicological concern in the safety evaluation of certain flavouring substances.