

Université de POITIERS

Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNEE 2013

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Arrêté du 17 juillet 1987)

Présentée et soutenue publiquement

Le 06 décembre 2013 à POITIERS

Par

Alice BROUSSE

Née le 03 avril 1988

Harmonisation des approches à seuil et sans seuil en évaluation des risques sanitaires
--

Composition du jury :

Président : Madame le Professeur RAGOT Stéphanie

Membres : Monsieur BOULANGER Guillaume, Pharmacien à l'ANSES

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur FAUCONNEAU Bernard



Faculté de Médecine et de Pharmacie

Année universitaire 2013-2014

PHARMACIE

Professeurs

COUET William, Pharmacie Clinique
FAUCONNEAU Bernard, Toxicologie
IMBERT Christine, Parasitologie
GUILLARD Jérôme, Pharmaco chimie
JOUANNETAUD Marie-Paule, Chimie Thérapeutique
LEVESQUE Joël, Pharmacognosie
MARCHAND Sandrine, Pharmacocinétique
OLIVIER Jean Christophe, Galénique
PAGE Guylène, Biologie Cellulaire
RABOUAN Sylvie, Chimie Physique, Chimie Analytique
SARROUILHE Denis, Physiologie
SEGUIN François, Biophysique, Biomathématiques

Maîtres de Conférences

BARRA Anne, Immunologie-Hématologie
BARRIER Laurence, Biochimie
BODET Charles, Bactériologie
BON Delphine, Biophysique
BRILLAULT Julien, Pharmacologie
CHARVET Caroline, Physiologie
DEJEAN Catherine, Pharmacologie
DEBORDE Marie, Sciences Physico-Chimiques
DELAGE Jacques, Biomathématiques, Biophysique
DUPUIS Antoine, Pharmacie Clinique
FAVOT Laure, Biologie Cellulaire et Moléculaire
GIRARDOT Marion, pharmacognosie, botanique,
biodiversité végétale
GREGOIRE Nicolas, Pharmacologie
HUSSAIN Didja, Pharmacie Galénique
INGRAND Sabrina, Toxicologie
MARIVINGT-MOUNIR Cécile Pharmaco chimie

PAIN Stéphanie, Toxicologie
RAGOT Stéphanie, Santé Publique
RIOUX BILAN Agnès, Biochimie
TEWES Frédéric, Chimie et Pharmaco chimie
THEVENOT Sarah, Hygiène et Santé publique
THOREAU Vincent, Biologie Cellulaire
WAHL Anne, Chimie Analytique

PAST - Maître de Conférences Associé

DELOFFRE Clément, Pharmacien
HOUNKANLIN Lydwine, Pharmacien

Professeur 2nd degré

DEBAIL Didier

Maître de Langue - Anglais

LILWALL Amy

Remerciements

A mon directeur de thèse

Monsieur Bernard Fauconneau, Professeur de Toxicologie à l'Université de Pharmacie de Poitiers

Pour avoir soutenu ce projet et m'avoir fait l'honneur d'accepter la direction de cette thèse,

Pour votre enseignement et votre gentillesse que j'ai pu apprécier pendant ces années de faculté,

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A ma présidente de thèse

Madame Stéphanie Ragot, Maître de Conférences en Santé Publique à l'Université de Pharmacie de Poitiers

Pour avoir accepté de présider le Jury de ma thèse, je tiens à vous adresser mes sincères remerciements.

Pour vos nombreux conseils durant ces années d'études et la qualité de votre enseignement, veuillez trouver par ce travail, le témoignage de mon plus profond respect.

A mes juges

Monsieur Laurent Bodin, Pharmacien à la Direction de l'Evaluation des risques, Unité d'Evaluation des Dangers et des Risques des substances, ANSES, Maître de stage

Monsieur Guillaume Boulanger, Pharmacien à la Direction de l'Evaluation des risques, Unité d'Evaluation des Risques liés à l'Air, ANSES, Maître de stage

Pour m'avoir soutenue pendant et bien après mon stage, merci pour la patience et la disponibilité dont vous avez fait preuve.

Grâce à vous et grâce à ce sujet particulièrement riche que vous m'avez confié, je garde un excellent souvenir de mon stage.

A ma famille

Pour m'avoir encouragée, rassurée, guidée, supportée pendant ces longues années, merci.
Merci de m'avoir fait confiance et d'avoir toujours respecté les choix et les directions vers lesquelles j'ai aspiré.

A mes compagnons de fac

Merci pour tous les bons souvenirs passés ensemble,

« Parce que les révisions les plus intenses riment aussi avec les soirées les plus folles »

A mes copains d'enfance

« Manon, Julie, Amélie, Adrien, Tristan, Patin, Alex, et les autres... »

Toujours au rendez-vous, merci pour votre bonne humeur générale.

A un bellissimo incontro, Gerardo

En souvenir de Cat et Serge,

SOMMAIRE

Remerciements	2
SOMMAIRE	4
1 Introduction	9
1.1 Etude de la relation entre santé et environnement	9
1.2 Contexte	9
1.3 Historique.....	10
1.4 Objectifs	12
2 Démarche méthodologique.....	13
2.1 Recherche bibliographique.....	13
2.2 Entretiens et contacts	13
2.3 Etudes de cas	14
2.3.1 Modélisation.....	14
2.3.2 Méthode statistique.....	15
3 Résultats.....	16
3.1 Synthèse du chapitre 5 du NRC : « Vers une approche unifiée de la relation dose-réponse »	16
3.1.1 Nouveau schéma de construction des VTR	18
3.1.1.1 Description des modèles	20
3.1.1.2 Les travaux d'Hattis	23
3.1.2 Nouvelle définition de la VTR	25
3.2 Etat des lieux sur le projet d'harmonisation : synthèse de la littérature	25
3.2.1 Application des trois modèles du NRC pour la dioxine	25
3.2.2 La démarche probabiliste et la publication de Woodruff	27
3.2.3 Relation dose réponse et évaluation du risque non cancérogène	30
3.2.3.1 Les travaux en faveur de l'approche probabiliste	30
3.2.3.2 La critique de Crump (Crump et al., 2010).....	33
3.2.3.3 Débats autour de l'extrapolation linéaire aux faibles doses pour les effets non cancérogènes	34
3.3 Etudes de cas	36
3.3.1 L'exemple du sulfure d'hydrogène.....	36
3.3.2 L'exemple du para-chloronitrobenzène	42
3.3.3 L'exemple du benzène.....	49
4 Discussions.....	54
4.1 Discussion générale sur le projet d'harmonisation	54
4.1.1 Les limites et possibles difficultés de l'approche	54
4.1.2 Recommandations et perspectives	54

4.2	Evolution de la démarche d'évaluation des risques au sein de l'US EPA	56
5	Conclusion	59
6	Bibliographie.....	61
	ANNEXES.....	64
	Annexe 1 : Grille de lecture pour la recherche « dose response relationship AND noncancer risk assessment » (aperçu de 10 articles).....	65
	Annexe 2 : Modèles conceptuels pour la dioxine (Simon et al., 2008).....	71
	Annexe 3 : Liste des intervenants	74

Sigles et abréviations

AC₁₀ = seuil d'effet utilisé dans la publication de Woodruff et correspondant au 90^{ème} centile de la distribution de la réponse dans la population non exposée.

Afssa = Agence française de Sécurité Sanitaire des aliments

Afsset = Agence française de Sécurité Sanitaire de l'environnement et du travail

AhR = Aryhydrocarbonreceptor = récepteur des arylhydrocarbures également connu sous le nom de récepteur de la dioxine

Anses = Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ATSDR = Agency for Toxic Substances and Disease Registry (Etats-Unis)

BMC = BenchMark Concentration

BMD = BenchMark Dose

BMD_{ADJ} = BenchMark Dose ajusté

BMDL = BenchMark Dose Limit = limite inférieure de l'intervalle de confiance de la BMD

BMDxLy = Limite inférieure de l'intervalle de confiance à y % de la dose correspondant à un niveau de réponse de x %.

BMR = BenchMark Response

DEHP = Di(2-EthylHexyl)Phtalate

DJE = Dose Journalière d'Exposition

EDH = Human Equivalent Dose

ERI = Excès de Risque Individuel

ERS = Evaluation des Risques Sanitaires

ERU = Excès de Risque Unitaire

fAhR = fraction de l'AhR activée ou pourcentage d'activation de l'AhR

H₂S = Sulfure d'hydrogène

HEC = Human Equivalent Concentration

INRS = Institut National de Recherche et de Sécurité

IPCS = International Programme on Chemical Safety

LALC = Lifetime Average Liver Concentration = Concentration hépatique moyenne durant toute la durée de vie

MDMA = 3,4 – méthylène – dioxi – N – méthylamphétamine

MoA = Mode d'action

MRL = Minimal Risk Level (terme employé par l'ATSDR)

NOAEL = No Observed Adverse Effect Level (dose sans effet adverse observé)

NRC = National Research Council

pCNB = para-chloronitrobenzène

PK = paramètres pharmacocinétiques

POD = Point of Departure = Dose critique = Critical Effect Dose (CED)

QD = Quotient de Danger

RIVM = RijksInstituut voor Volksgezondheid (Institut National Hollandais pour la santé publique et l'environnement)

RsD (C) = Risk-specific dose (concentration)

RV = volume résiduel

sCL = Compliance spécifique

TCDD = 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine

TLC = capacité pulmonaire totale

UFs = Uncertainty Factors (Facteurs d'incertitude)

US EPA = United States Environmental Protection Agency

VGAI = Valeur Guide de qualité d'Air Intérieur

VLEP = Valeur Limite d'Exposition Professionnelle

VR = Valeur de Référence

VTR = Valeur Toxicologique de Référence

Liste des tableaux

Tableau 1: Incidence d'hypertrophie de l'épithélium bronchiolaire et de l'hyperplasie chez les rats Sprague-Dawley à la suite d'une exposition subchronique de 10, 30, 80 ppm d'H ₂ S (Dorman et al., 2004).	36
Tableau 2: Résultats des différents modèles du logiciel BMDS. En rouge, la BMDL du modèle Gamma est retenu.	38
Tableau 3: Diminution du nombre d'hématies (moyenne du nombre d'hématies + écart-type) chez le rat F344 (Matsumoto et al., 2006). La dernière colonne représente les valeurs obtenues après transformation des données continues (diminution du nombre d'hématies) à l'aide de l'équation 1 : c'est l'approche hybride.	43
Tableau 4: Diminution du pourcentage d'hématocrite chez les souris CD-1 mâles suite à une exposition subchronique d'inhalation au benzène à 3,2, 32, 96 et 960 mg.m ⁻³ (Ward et al., 1985). La dernière colonne représente les valeurs obtenues après transformation des données continues (diminution du pourcentage d'hématocrite) à l'aide de l'équation 1.	50

Liste des figures

Figure 1 : Nouvelle démarche pour l'évaluation de la relation dose-réponse	17
Figure 2 : Nouveau schéma de construction des VTR.	19
Figure 3 : Modèle 1 du NRC : Modèle non linéaire au niveau individuel mais linéaire aux faibles doses au niveau populationnel du fait de l'existence de prédispositions	20
Figure 4 : Modèle 2 du NRC : Modèle non linéaire au niveau individuel et non linéaire aux faibles doses au niveau populationnel	21
Figure 5 : Modèle 3 du NRC : Modèle linéaire au niveau individuel et linéaire aux faibles doses au niveau populationnel	22
Figure 6 : Distribution de la vulnérabilité dans la population, d'après Woodruff <i>et al.</i>	29
Figure 7 : Distribution d'excès de risque dans la population associée à une exposition, d'après Woodruff <i>et al.</i>	29
Figure 8 : Graphique représentant la caractérisation du risque du DEHP (Bosgra et al, 2005). Pour chaque fraction de la population exposée à une certaine concentration de DEHP (Utot), la courbe montre le niveau de confiance à avoir (P) pour conclure sur le fait que l'exposition totale au DEHP (X) soit inférieure à la NAELsh (dose maximale à laquelle aucun effet est observé chez les sous populations sensibles), autrement dit, la probabilité qu'il n'y ait pas de risque.	32
Figure 9 : Modélisation des données expérimentales avec l'équation Gamma et détermination de la BMD10L95 (Equation Gamma en rouge, Intervalle de Confiance en bleu).	39
Figure 10 : Modélisation des données expérimentales avec l'équation exponentielle et détermination d'une BMD18%L90% pour le pCNB.	44
Figure 11 : Illustration de l'approche hybride dans le cas d'un effet continu hypothétique. Le cut-off représente une valeur d'effet adverse et correspond à un percentile de la distribution du témoin (généralement en queue de distribution). Les zones coloriées correspondent à p(di) dans l'équation 1 (Sand et al., 2008).	47
Figure 12 : Relation dose réponse du para-chloronitrobenzène après transformation des données continues de l'étude de Matsumoto (Matsumoto et al., 2006) en données quantales.	48
Figure 13 : Relation dose réponse du benzène obtenue après transformation des données continues de l'étude de Ward en données quantales.	53
Figure 14 : Document cadre de l'évaluation des risques sanitaires vers l'information de la décision	57

1 Introduction

1.1 Etude de la relation entre santé et environnement

La santé environnementale, concept introduit par l'OMS en 1993, porte sur tous les aspects de la santé et la qualité de vie des populations qui résultent de l'action sur l'Homme de facteurs biologiques, chimiques et physiques de l'environnement, qu'ils soient d'origine naturelle ou anthropique. C'est une notion globale renvoyant aux interactions, positives ou négatives, entre l'Homme et l'environnement.

Etablir une relation causale entre l'état de l'environnement et l'état de santé d'une population n'est pas simple. En effet, les expositions aux polluants environnementaux sont nombreuses, souvent de faibles niveaux, et ne permettent pas d'établir un lien clair avec une pathologie spécifique.

Dans ce contexte de complexité et d'incertitudes, l'évaluation des risques sanitaires (ERS) intervient comme un outil d'aide à la compréhension du risque et à la décision.

La démarche d'évaluation des risques sanitaires née aux Etats-Unis dans les années 1980, est une démarche de synthèse des connaissances scientifiques disponibles (environnementales, cliniques, épidémiologiques, toxicologiques) permettant de définir les effets sur la santé d'une exposition d'individus ou de populations à des substances, des agents ou des situations dangereuses.

Cette démarche est actuellement utilisée dans les agences d'expertise sanitaire où elle sert de base à la fixation de seuils réglementaires ou de valeurs sanitaires (tels que la valeur toxicologique de référence (VTR), la valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP), la valeur guide de qualité d'air intérieur (VGAI), la dose journalière admissible (DJA) utilisées par l'Anses, Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail).

1.2 Contexte

Le sujet de thèse s'inscrit à la suite du document du National Research Council (NRC, 2009) dont la publication fin 2008 a proposé diverses pistes de réflexions et de recommandations visant à améliorer les pratiques en évaluation des risques

sanitaires, et notamment la démarche actuelle suivie par l'United States Environmental Protection Agency (US EPA). L'une des propositions suggère de reconsidérer la manière de caractériser la relation dose réponse en vue d'une harmonisation des approches à seuil et sans seuil dans les étapes de caractérisation du danger et dans l'élaboration des Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR).

1.3 Historique

La conduite d'une évaluation quantitative des risques sanitaires telle que préconisée par le National Research Council américain en 1983, implique une démarche en 4 étapes :

- L'identification des dangers
- L'estimation de la relation dose-effet
- L'estimation des expositions
- La caractérisation des risques

L'identification des dangers se décompose en deux parties : le recensement des agents en cause (agents physiques, chimiques ou biologiques présents dans les milieux et auxquels les populations étudiées sont potentiellement exposées) et le recensement des effets indésirables (causés par ces agents sur une population) définis par les études épidémiologiques et/ou toxicologiques (Afsset, 2006)

L'estimation de la relation dose-effet ou dose-réponse a pour but de définir une relation quantitative entre une dose d'exposition et un niveau d'effet ou entre une dose d'exposition et une probabilité de survenue d'un effet. (Afsset, 2006)

Ces deux premières étapes qui visent à caractériser le danger ont pour objectif, lorsque les données disponibles sur les substances considérées le permettent, la proposition de VTR. La construction de ces VTR diffère en fonction des connaissances ou des hypothèses formulées sur le mode d'action des substances (Afsset, 2010).

De manière générale, les « VTR à seuil de dose » sont utilisées pour les effets non cancérogènes ou cancérogènes non génotoxiques tandis que les « VTR sans seuil de dose » sont utilisées pour les effets cancérogènes génotoxiques.

Dans le cas des effets à seuil de dose, l'effet néfaste ne survient que si une certaine dose est atteinte et dépasse les capacités de détoxification de l'organisme. C'est la gravité de l'effet qui dépend de la dose.

La VTR correspond alors à une dose ne devant pas entraîner la survenue de l'effet néfaste.

$$VTR = POD / (UFs)$$

Pour ajuster cette valeur à l'ensemble de la population humaine, et ainsi prendre en compte les incertitudes (liées à la variabilité entre animal et Homme, entre les Hommes, à la durée de l'étude, etc...) des facteurs d'incertitudes (UFs) sont appliqués à la dose critique ou POD (Point of Departure). La VTR est donc égale à la dose critique observée chez l'animal ou chez l'Homme divisée par les facteurs d'incertitudes. Ceci constitue l'approche non linéaire.

Cette VTR est ensuite comparée aux niveaux d'exposition dans le calcul du quotient de danger QD.

$$QD = D / VTR$$

Les valeurs de QD supérieures à 1 indiquent une possible survenue de l'effet. Plus ces valeurs sont grandes, plus le risque est important. Mais ce quotient ne permet pas de connaître la fraction de la population touchée par une exposition donnée, ni de quantifier le risque à différentes doses, et ne permet pas non plus de quantifier l'incertitude liée à la détermination de la VTR (NRC, 2009).

Dans le cas des effets sans seuil de dose, l'hypothèse est que l'effet apparaît quelle que soit la dose reçue. C'est la probabilité du risque qui croît avec la dose.

La VTR correspond alors à une probabilité supplémentaire, pour un individu exposé à une unité de dose, par rapport à un individu non exposé, de manifester un effet néfaste.

C'est ce qu'on appelle l'excès de risque unitaire (ERU), ou encore la pente de la droite reliant le POD à l'origine. Elle est obtenue en faisant une extrapolation linéaire à l'origine à partir de la POD. Il s'agit d'un inverse de dose ou de concentration.

Avec cette approche sans seuil, également appelée approche linéaire, il est possible de quantifier le risque quelle que soit l'exposition. Néanmoins elle ne permet pas de

décrire de manière quantitative la variabilité interindividuelle (NRC, 2009). Ce qui engendre une détermination incomplète du risque possible dans la population.

Le schéma général adopté actuellement par l'Anses pour construire une VTR est basé sur une démarche structurée en plusieurs étapes, suivant celles préconisées par le NRC.

La première étape consiste donc à recenser toutes les données toxicologiques disponibles sur la substance à évaluer. Cela permet d'identifier les organes cibles et de choisir l'effet critique, c'est-à-dire le premier effet qui survient lorsqu'on accroît la dose et jugé pertinent chez l'Homme.

La deuxième étape permet l'identification de l'hypothèse de construction à seuil ou sans seuil à partir des connaissances sur le mode d'action de la substance.

Quelle que soit l'hypothèse de construction, on modélise si possible les résultats pour définir la dose critique (POD), qui sera le plus souvent la Benchmark Dose (BMD) ou son intervalle de confiance la BMDL (BMDLimit).

C'est à partir de la détermination de ce POD que l'on procède différemment selon l'hypothèse de construction à seuil ou sans seuil.

Toutefois il existe un tronc commun dans la construction générale avec la BMDL, qui peut être pressentie comme un début d'harmonisation.

C'est dans ce sens que se focalise le NRC : reconsidérer la manière de caractériser la relation dose effet vers une approche unifiée.

1.4 Objectifs

La thèse a pour objectifs d'explorer l'harmonisation des approches à seuil et sans seuil dans l'étude des relations dose-réponse et d'en évaluer sa mise en place dans les futures évaluations quantitatives des risques sanitaires.

2 Démarche méthodologique

2.1 Recherche bibliographique

La thèse repose en partie sur une revue critique de la littérature. Cela implique en premier lieu l'analyse du chapitre 5 du document du NRC « Silverbook » concernant la problématique de l'harmonisation des approches à seuil et sans seuil puis une revue de la littérature sur cette thématique afin d'évaluer les pistes envisagées par d'autres auteurs.

Une recherche dans la base de données Scopus a ainsi été entreprise à l'aide des mots clés : « dose response relationship AND noncancer risk assessment ». Cette recherche s'est donc focalisée essentiellement sur l'évolution de la démarche d'évaluation des risques non cancérogènes.

96 publications ont été recensées et 26 ont été retenues sur lecture des résumés d'articles. Après lecture des articles, une deuxième sélection a été constituée en fonction de différents critères : pertinence et qualité de l'étude, cas concret d'une substance non-cancérogène, année de publication.

Un aperçu des résultats est visible sous forme de grille de lecture en annexe 1.

Les publications de Simon (Simon *et al.*, 2008) et de Woodruff (Woodruff *et al.*, 2007) font notamment l'objet d'une analyse plus approfondie.

2.2 Entretiens et contacts

Une série d'auditions et d'entretiens avec des experts a été réalisée via les Groupes de Travail ou Comités d'Experts Spécialisés de l'Anses. La liste de ces intervenants est mentionnée en annexe 3. Ces confrontations m'ont permis de mieux visualiser les problèmes actuels des évaluations des risques conduites dans les agences sanitaires, de mieux comprendre les recommandations suggérées par le NRC, et ainsi de faire progresser mon analyse.

2.3 Etudes de cas

Afin de mettre en perspective cette analyse réalisée et se confronter aux avantages et inconvénients des recommandations formulées par le NRC, il a été décidé de décliner la méthode avec plusieurs cas pratiques incluant le sulfure d'hydrogène, le benzène, et le para-chloronitrobenzène.

Ces substances ont été choisies du fait d'une expertise existante au sein de l'Anses sur le sujet, et par ailleurs, du fait d'un corpus de données exploitables pour leurs effets non-cancérogènes (bien que le benzène soit plus largement connu pour ces effets cancérogènes), notamment en lien avec la qualité des études toxicologiques utilisées. En effet, certains paramètres sont nécessaires à la modélisation des données expérimentales; par exemple le nombre de doses testées doit être suffisant pour estimer la BMD (au moins trois groupes de doses en plus du groupe non exposé).

Des outils de modélisation et des méthodes statistiques ont été exploités pour la réalisation de ces études de cas.

2.3.1 Modélisation

La benchmark dose est une dose produisant un effet non nul correspondant à un niveau de réponse donné par rapport à un groupe témoin.

Le plus souvent, la limite inférieure de son intervalle de confiance à 95% ou 90% (BMDL_{95%} ou BMDL_{90%})¹ est utilisée.

Cette approche repose sur une modélisation des données expérimentales prenant en compte l'ensemble de la courbe dose-réponse.

Des outils tels que BMD Software de l'US EPA (<http://www.epa.gov/ncea/bmds/>) et PROAST du RIVM (<http://www.rivm.nl/proast>) ont été développés ces dernières années spécifiquement pour l'estimation des BMD.

2.3.2 Méthode statistique

Le logiciel R (<http://www.r-project.org/>) est un logiciel de statistique qui sert à manipuler des données, à tracer des graphiques et à faire des analyses statistiques sur ces données.

Pour la réalisation de l'approche hybride, c'est-à-dire la transformation des données continues en données quantales, il a été utilisé l'équation suivante (Sand *et al.*, 2008):

$$\text{Équation 1} \quad p(d_i) = \Phi \left[\frac{c - \mu(d_i)}{\sigma} \right]$$

$p(d_i)$ = proportion de la distribution en dessous du cutoff , à la dose i

Φ = fonction de répartition de la distribution normale

c = valeur du cut-off, correspondant à l'effet jugé critique

$\mu(d_i)$ = réponse moyenne à la dose d_i (50^{ème} percentile de la distribution)

σ = écart type

Cette équation a été calculée dans le logiciel R.

¹ L'US EPA utilise la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95%, le RIVM la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 90%.

3 Résultats

3.1 Synthèse du chapitre 5 du NRC : « Vers une approche unifiée de la relation dose-réponse »

Le Comité du NRC préconise de nouvelles perspectives d'évolution de la démarche d'évaluation des risques sanitaires.

Son document publié en 2009 donne une approche différente qui se focalise moins sur la distinction des critères cancérigènes/non cancérigènes que sur les possibles mécanismes d'actions des substances et les facteurs de susceptibilité dans la population qui pourraient influencer la relation dose réponse aux faibles doses (cf. Figure 1).

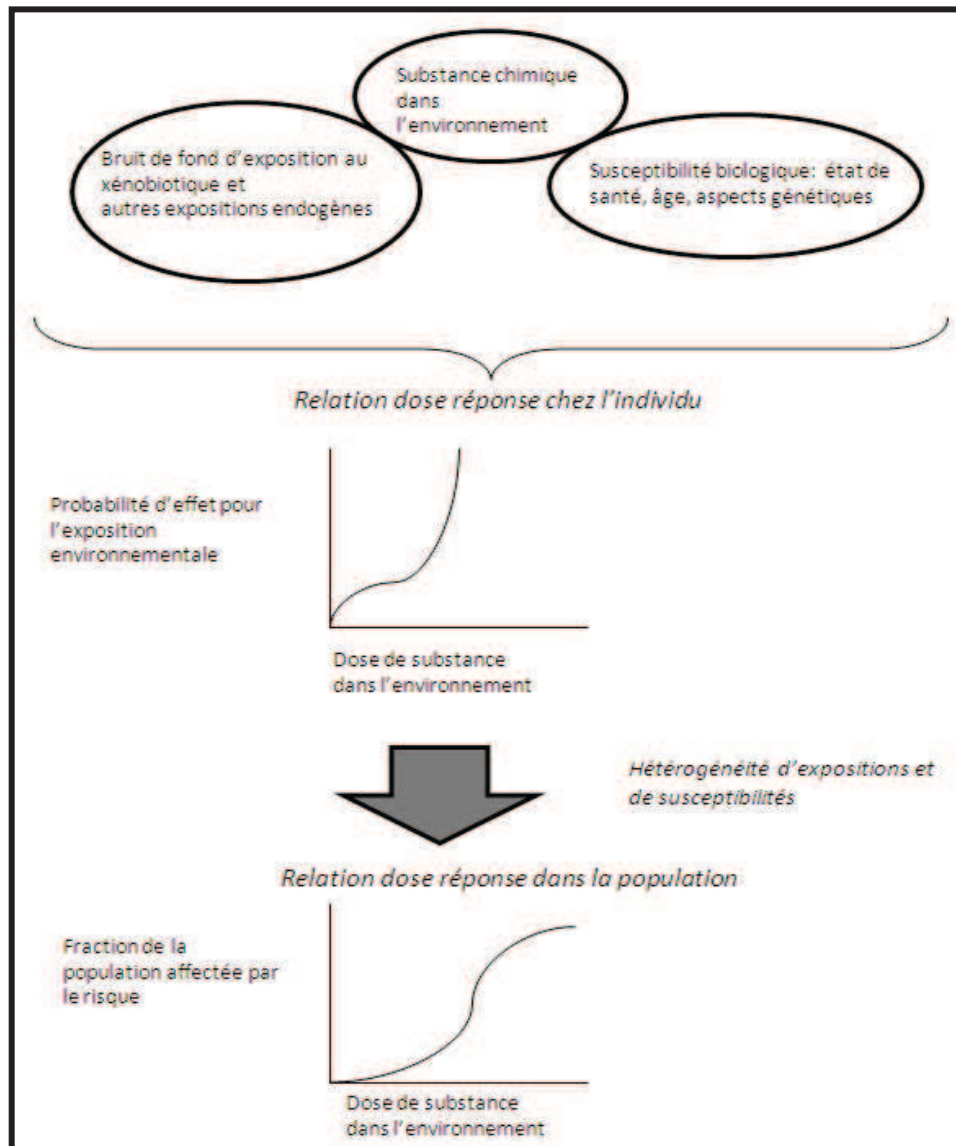


Figure 1 : Nouvelle démarche pour l'évaluation de la relation dose-réponse

Le risque lié à l'environnement dépend de la susceptibilité biologique de chaque individu (l'état de santé, l'âge, les facteurs génétiques..) et des expositions endogènes ou exogènes auxquelles il est confronté. Ces différences de facteurs entre les individus affectent la courbe de la relation dose-réponse dans la population (NRC, 2009).

Ce concept s'appuie sur des considérations mécanistiques dans lesquels le mode d'action du toxique peut interagir avec des bruits de fond de type pathologique ou avec d'autres expositions chimiques et ainsi produire une courbe linéaire à faibles doses.

De plus, dans les situations où la linéarité à faible dose doit être rejetée (cf. page 11), le rapport du NRC propose d'autres approches alternatives pour développer une dose de référence qui permet de quantifier le risque attribuable.

Pour le NRC, une description de la probabilité de la réponse adverse à des expositions données apparaît comme une finalité commune quelle que soit la caractéristique de la substance.

L'approche à seuil pour définir la VTR et le Quotient de danger fournit un outil binaire aux gestionnaires de risques.

Bien que cette approche soit utile dans certains contextes, cela ne permet pas de donner un aperçu du niveau de population touché par ce risque au-dessus et au-dessous de la VTR.

Les recommandations du NRC se focalisent essentiellement sur une expression probabiliste du risque et fournit les premières pistes pour unifier les approches utilisées en évaluation des risques pour les substances quelque soit leur type d'effet.

3.1.1 Nouveau schéma de construction des VTR

Le NRC a proposé un nouveau schéma de construction des VTR plus cohérent d'un point de vue biologique, qui prend en compte le bruit de fond en termes d'exposition et en termes de facteurs de prédisposition (âge, état de santé, facteurs génétiques).

Il permettrait, après avoir rassemblé les données d'effets, d'évaluer de façon systématique le mode d'action de la substance, les populations vulnérables et le bruit de fond d'exposition (cf Figure 2).

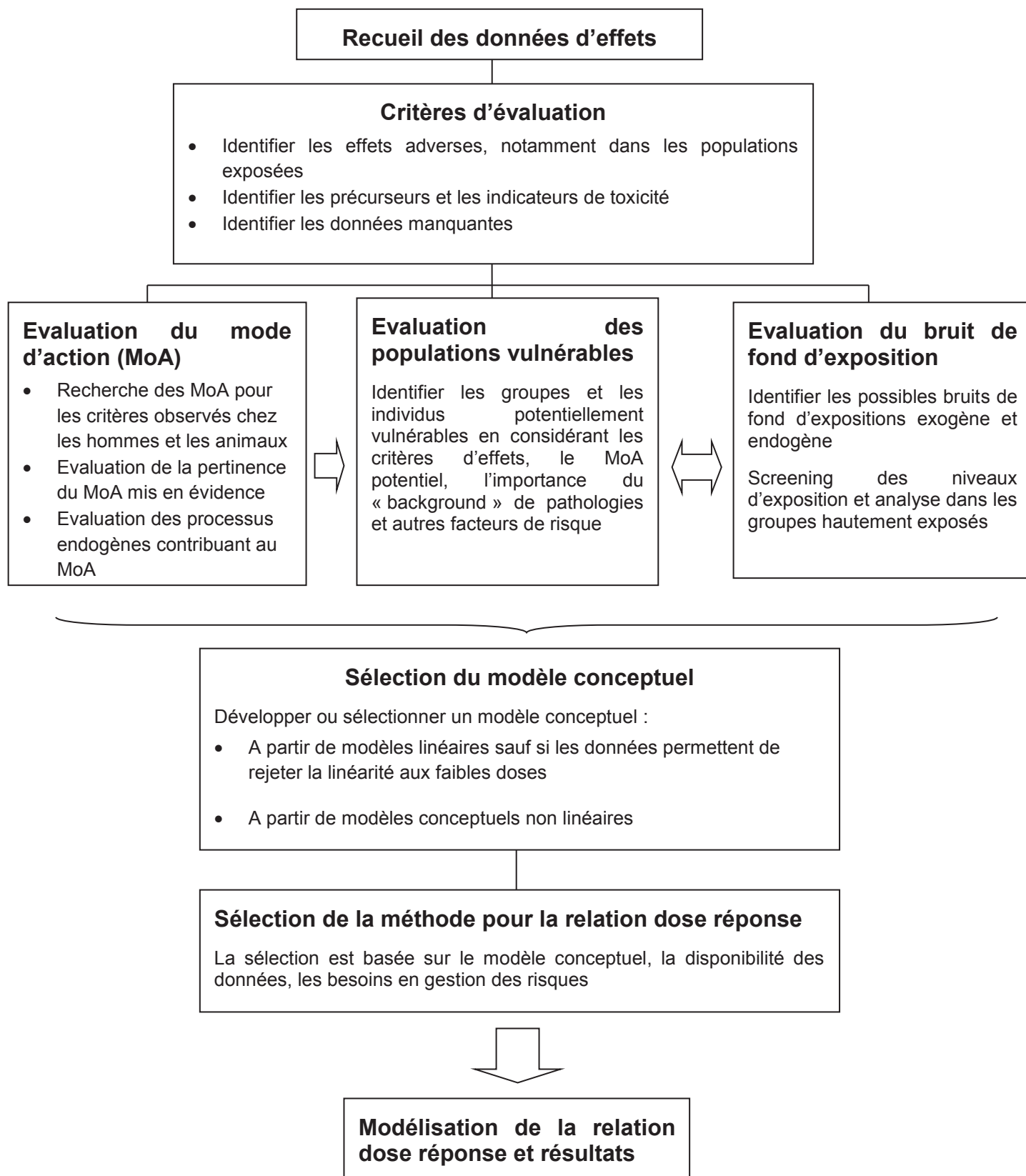


Figure 2 : Nouveau schéma de construction des VTR.

Le nouveau schéma de construction des VTR préconisé par le NRC prenant en compte le « bruit de fond » en termes d'exposition et de vulnérabilité dans la population, pouvant établir potentiellement une linéarité aux faibles doses (NRC, 2009) est présenté en figure 2.

Cette évaluation conduit ensuite à la sélection des modèles de relation dose réponse à l'échelle individuelle et populationnelle en fonction de la présence ou l'absence de linéarité aux faibles doses. Le rapport du comité propose trois modèles.

3.1.1.1 Description des modèles

- Le modèle 1 est basé sur une relation dose réponse à seuil à l'échelle individuelle mais sans seuil à l'échelle de la population en raison de l'importance du terrain pathologique et/ou d'exposition (existence de prédispositions menant à une hétérogénéité des seuils à l'échelle individuelle).
- Le modèle 2 est basé sur une relation dose réponse à seuil à l'échelle individuelle et populationnelle en raison d'une présence moins significative d'un terrain pathologique et/ou d'exposition.
- Le modèle 3 est basé sur une relation dose réponse linéaire à l'échelle individuelle et populationnelle en raison de l'absence de seuil chez les individus et de l'importance du terrain pathologique et/ou d'exposition.

La sélection du modèle et de la méthode doit se faire en fonction des données disponibles, et des difficultés liées à la gestion des risques pour le type de risque considéré.

Chacun des modèles fournit une description probabiliste de la relation dose réponse à l'aide de la combinaison des distributions des facteurs d'ajustements. Mais seul le modèle 2 applique des distributions de variabilité humaine pour extrapoler le risque aux faibles doses. Les modèles 1 et 3 utilisent l'extrapolation linéaire. La description de ces modèles est présentée ci-dessous.

L'exemple choisi par le NRC pour décrire le modèle 1 est le phosgène.

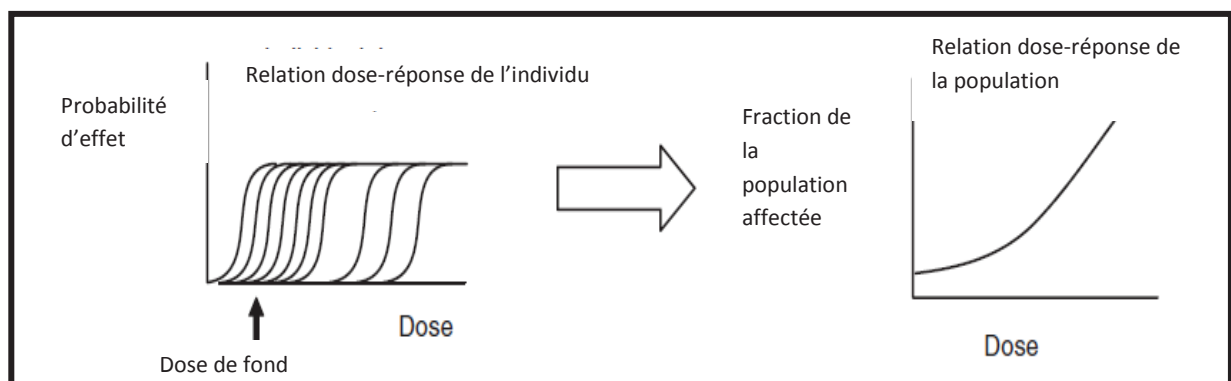


Figure 3 : Modèle 1 du NRC : Modèle non linéaire au niveau individuel mais linéaire aux faibles doses au niveau populationnel du fait de l'existence de prédispositions

Le NRC s'intéresse aux effets d'inflammation et de fibrose dans les régions bronchiolaires provoquées par le phosgène.

En raison d'un important « terrain » pathologique et d'exposition, qui pourrait s'additionner à ces effets au niveau de la population (en prenant en compte l'asthme qui a une incidence importante, mais également la prise de médicaments pouvant générer ces types d'effets, les infections), le NRC recommande une extrapolation linéaire aux faibles doses à l'échelle de la population.

La méthode utilisée pour caractériser la relation dose réponse est la suivante :

- Identification d'une dose critique (BMD) chez l'animal responsable d'une augmentation de 10% de la probabilité de développer une irritation par rapport au groupe témoin ;
- Dérivation d'une dose équivalente humaine à l'aide des distributions des facteurs d'ajustements ;
- Extrapolation linéaire aux faibles doses.

L'exemple choisi par le NRC pour décrire le modèle 2 est le xénon.

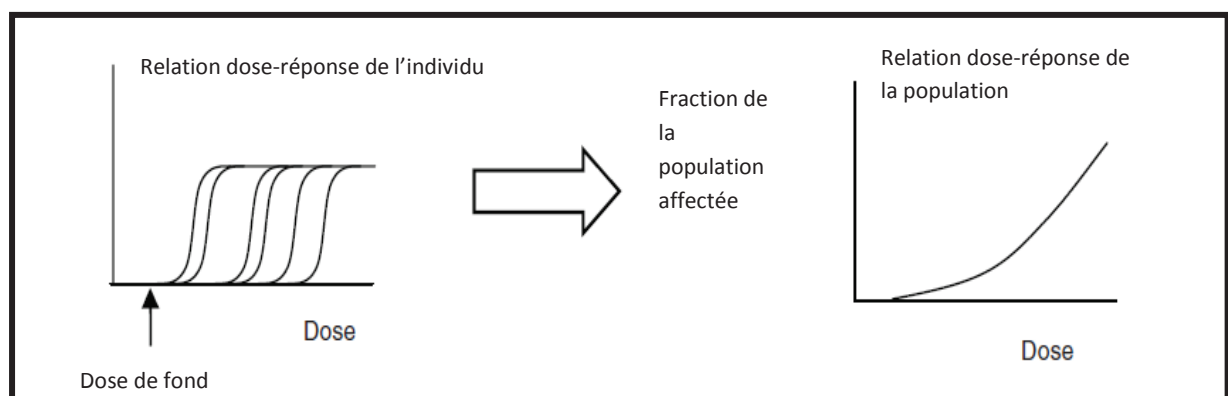


Figure 4 : Modèle 2 du NRC : Modèle non linéaire au niveau individuel et non linéaire aux faibles doses au niveau populationnel

Le NRC s'intéresse aux effets anesthésiants du xénon. Dans ce cas, la concentration de xénon dans l'air étant très faible, et ne provoquant pas d'effets anesthésiants dans la population, le terrain lié à l'exposition au xénon est jugé moindre. De même, le nombre d'individus sous anesthésie par action du xénon ne représente qu'une petite partie de la population, restreinte aux personnes subissant une intervention

chirurgicale. Le modèle sera donc à seuil et ne nécessitera pas d'extrapolation aux faibles doses à l'échelle de la population.

La méthode utilisée pour caractériser la relation dose réponse est la suivante :

- Identification d'une dose critique (BMD) chez l'animal responsable d'une augmentation de 10% de la probabilité de développer des effets anesthésiants ;
- Dérivation d'une dose équivalente humaine à l'aide des distributions des facteurs d'ajustements.

L'exemple choisi par le NRC pour décrire le modèle 3 est le 4-aminobiphényle.

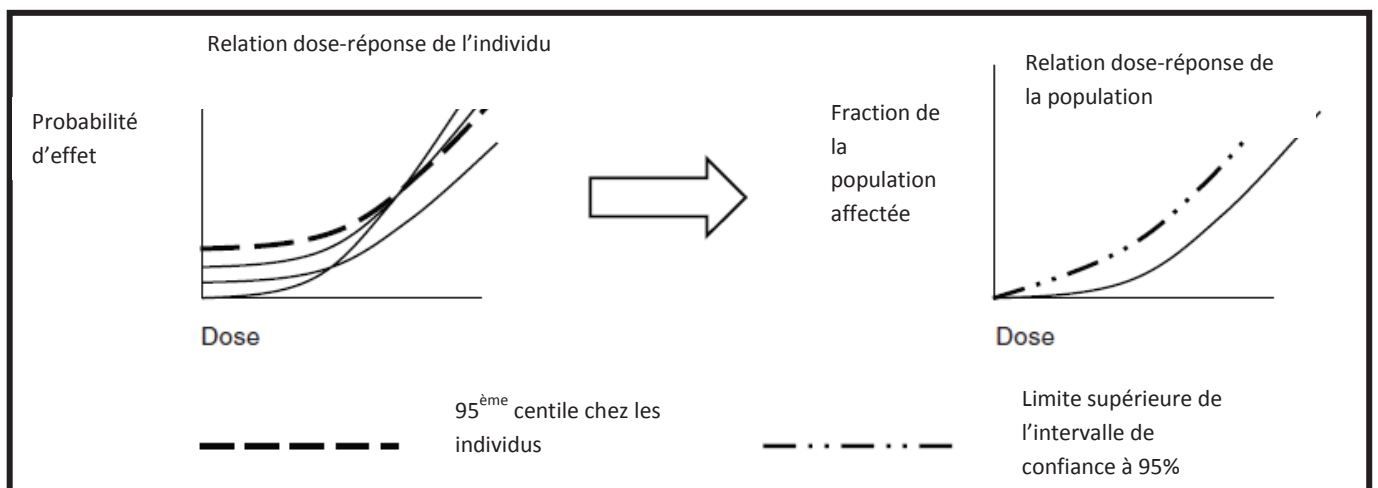


Figure 5 : Modèle 3 du NRC : Modèle linéaire au niveau individuel et linéaire aux faibles doses au niveau populationnel

Le NRC s'intéresse aux effets carcinogènes du 4-aminobiphényle, provoquant le cancer de la vessie chez l'homme. Dans ce cas, l'hypothèse est que le processus cancérogène apparaît quel que soit la dose reçue à l'échelle individuelle. De même, l'exposition au 4-aminobiphényle étant due majoritairement à la fumée de cigarette, le terrain pathologique et d'exposition est important. La linéarité aux faibles doses sera donc utilisée à l'échelle individuelle et populationnelle. Cependant, il a été démontré que certains facteurs physiologiques tels que la capacité de stockage de la vessie contribue à une variabilité humaine face au risque et notamment à des différences dans les paramètres pharmacocinétiques. Le NRC cherche donc à

prendre en compte cette variabilité dans la caractérisation de la relation dose-réponse à l'échelle de la population.

La méthode utilisée pour caractériser la relation dose réponse à la manière du modèle 3 est la suivante :

- Identification d'une dose critique (BMD) chez l'animal responsable d'une augmentation de 10% de la probabilité de développer un cancer de la vessie ;.
- Dérivation d'une dose critique humaine à l'aide des distributions des facteurs d'ajustements ;
- Extrapolation linéaire aux faibles doses à partir de la dose critique moyenne POD_{50} ou sa limite inférieure POD_{05} pour déterminer le risque individuel moyen ;
- Application des distributions de variabilité interindividuelle pour estimer le risque moyen dans la population.

Il est à noter que les trois modèles reposent sur l'utilisation de distributions lognormales développées en grande partie par Hattis et ses collaborateurs (Hattis *et al.*, 2002).

3.1.1.2 Les travaux d'Hattis

Les travaux d'Hattis consistent à collecter et à analyser des données cliniques humaines nécessaires à la construction de distributions « génériques » de facteurs d'incertitudes, que ce soit l'incertitude relative à la durée de l'étude, au manque de données, à la transposition de l'animal à l'Homme, ou encore à la variabilité entre les individus.

Les distributions de l'incertitude liée au passage d'une durée d'exposition subchronique à chronique sont calculées à partir d'une analyse de Baird *et al* (Baird, 1996) des NOAELs subchroniques et chroniques recueillis par certains auteurs. 61 toxiques ont été comparés et analysés. La distribution des ratios NOAELs subchroniques/ NOAELs chroniques s'est avérée lognormale avec une moyenne géométrique de 2,01 et un écart type géométrique de 2,17 (Hattis *et al.*, 2002).

Les distributions de l'incertitude relative aux données manquantes (d'une étude toxicologique chronique ou reprotoxicologique) dans l'estimation d'une NOAEL ont été calculées à partir des données d'Evans et Baird (Evans and Baird, 1998) qui ont analysés 35 pesticides dont le profil toxicologique complet était connu. Il a été possible d'établir des distributions pour savoir de combien la NOAEL pouvait changer lorsqu'on retirait certaines données du profil toxicologique (Hattis *et al.*, 2002).

Les distributions de l'incertitude liée à la transposition animal-Homme ont été développées à partir des différences de toxicité aiguë et subaiguë observées chez l'Homme et l'animal après exposition à des anticancéreux.

Les distributions de l'incertitude liée à la variabilité humaine entre les individus ont été développées à partir de données de variabilité des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. Ces données recueillies par Hattis et Lynch (Hattis and Lynch, 2007) proviennent pour la plupart d'études sur des médicaments. 471 groupes de données d'observations de différents paramètres ont été compilés et résumés. Pour la composante pharmacocinétique, les données proviennent de l'analyse de 37 médicaments dont il a été recueilli des informations sur la distribution (AUC^2 et C_{max}^3) à partir du sang d'enfants et d'adultes en bonne santé.

Le Comité du NRC s'est appuyé sur les travaux d'Hattis afin de recommander dans un premier temps l'utilisation de distributions par défaut de la variabilité associée aux facteurs d'incertitudes, plutôt que des valeurs nominales imprécises (Facteur 10 par exemple). Pour le Comité du NRC, ces distributions permettraient de mieux rassembler les données existantes, et de fournir une première représentation de la variabilité et de l'incertitude qui pourra être affinée au fur et à mesure.

² AUC (Area Under Curve) ou ASC (Aire Sous Courbe) est l'aire sous la courbe de la concentration en fonction du temps. Elle représente la concentration plasmatique d'un médicament en fonction du temps.

³ C_{max} est la concentration maximale d'une substance atteinte dans un compartiment particulier.

L'OMS, dans un document encore sous presse, explore la question de la caractérisation probabiliste du danger en proposant une démarche théorique de manière à prendre en compte les facteurs d'incertitudes sous forme de distributions.

3.1.2 Nouvelle définition de la VTR

Une des principales conséquences de l'approche harmonisée est la redéfinition de la VTR qui prendrait alors valeur d'une dose spécifique d'un risque, appelée RsD pour « risk-specific dose ».

L'objectif est de fournir une caractérisation probabiliste du risque, et de pouvoir dire « à la dose D, R fraction de la population sera probablement affectée, avec un intervalle de confiance à 95% de R_L - R_H », avec R_L la fraction inférieure et R_H la fraction supérieure de la population.

Cette nouvelle définition de la VTR permettra d'estimer le risque à n'importe quelle dose, pas seulement à la VTR. Pour les gestionnaires de risque, cela facilitera la compréhension des bénéfices liés à une diminution de l'exposition.

3.2 Etat des lieux sur le projet d'harmonisation : synthèse de la littérature

Certains auteurs ont essayé d'appliquer en pratique ou se sont inspirés des propositions issues du rapport NRC. Deux publications sont détaillées dans ce chapitre illustrant la mise en œuvre de ces concepts et les limites associées.

3.2.1 Application des trois modèles du NRC pour la dioxine

L'objectif de l'étude de Simon (à paraître) (Simon *et al.*, 2009) est d'évaluer le risque RsD lié aux effets cancérogènes du 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD) à l'aide des trois modèles conceptuels proposés par le NRC.

Suite à une discussion récente entre experts, l'activation prolongée du récepteur de l'Ahr (arylhydrocarbon receptor) par la dioxine peut être considérée comme un événement clé essentiel au mode d'action de la substance dans le cas des cancers du foie des rongeurs. La mesure de cette activation, considérée comme un biomarqueur d'effet, a été utilisée dans l'étude pour l'extrapolation intra-espèce.

Les niveaux d'activation de ce récepteur peuvent en effet varier en fonction des différences d'alimentation, de mode de vie et de l'héritage génétique des individus.

Ainsi, l'activation du récepteur causée par des facteurs autres que l'exposition à la dioxine, pour un individu donné, constituera son « terrain », autrement dit sa prédisposition aux effets cancérogènes de la dioxine.

Les critères d'effets retenus dans l'étude de Simon sont l'adénome hépatique et le cholangiosarcome.

Les étapes communes aux trois modèles (voir annexe 6 pour la description schématique des étapes) sont les suivantes :

- Estimation de la dose critique correspondant à une incidence de 1% des tumeurs chez les rongeurs. Cette dose est exprimée en concentration hépatique en TCDD pendant une durée de vie moyenne (Lifetime Average Liver Concentration ou LALC), puis convertie ensuite en pourcentage d'activation de l'AhR (fAhR). Cette conversion s'est effectuée en mesurant l'induction du Cytochrome P450 1A2 (lui-même biomarqueur de l'activation de l'AhR) chez des rats exposés à la dioxine. La dose critique est ensuite modélisée sous la forme d'une distribution probabiliste de façon à inclure les incertitudes des mesures effectuées dans les études (mesures des concentrations hépatiques et de l'induction enzymatique chez les rats).
- Estimation de la distribution du pourcentage d'activation de l'AhR en concentration équivalente humaine, c'est-à-dire en concentration de dioxine retrouvée dans le sérum humain en pg/g de lipides.
- Utilisation d'un modèle pharmacocinétique (PK) et d'un facteur d'ajustement toxicodynamique pour l'extrapolation animal-Homme de façon à obtenir la distribution des doses externes chez l'Homme.

Les différences essentielles entre les modèles sont les suivantes :

- Le modèle 1 prend en compte le « background » pathologique (autres sources d'activation du récepteur AhR) en le soustrayant à la distribution de la dose critique obtenue chez l'animal. Ce « background » est mesuré à partir d'études du métabolisme de la caféine chez l'Homme. Il prend en compte également le « background » d'exposition à la dioxine dans la population générale en le soustrayant à la distribution des doses équivalentes humaines. L'estimation du risque aux faibles doses se fait par extrapolation linéaire.

- Le modèle 2 ne prend pas en compte les données de terrain pathologique et d'exposition. L'estimation du risque aux faibles doses ne se fait pas par extrapolation linéaire à partir de la dose critique mais grâce à l'utilisation d'un percentile de la distribution des doses externes chez l'Homme.
- Le modèle 3 ne prend pas en compte les données de terrain. L'estimation du risque aux faibles doses se fait par extrapolation linéaire et le calcul d'une pente.

Les auteurs obtiennent des résultats différents selon les modèles. Le modèle 2 propose un RsD trois fois plus élevés que les deux autres modèles utilisant l'extrapolation linéaire. Les valeurs obtenues par le modèle 1 et 3 ne sont pas très différentes. La prise en compte des données de terrains pathologique et d'exposition ne semble peu affecter la valeur de la RsD. Etant donné l'évidence de la présence d'un seuil d'activation du récepteur à la dioxine donnant lieu à une perturbation, le modèle 2 semble être, pour les auteurs, le modèle de relation dose-réponse le plus approprié pour la dioxine.

3.2.2 La démarche probabiliste et la publication de Woodruff

Le NRC cite les travaux de Woodruff et al. (2007) menés pour estimer les risques selon une approche probabiliste d'une substance considérée à seuil : l'acroléine.

Les auteurs ont en effet calculé les excès de risque associés à une exposition d'acroléine dans l'air ambiant aux Etats Unis en 1999 à partir des résultats d'une étude de modélisation de la relation dose réponse chez des rats entre acroléine et marqueurs de l'altération de la fonction respiratoire.

Les paramètres pulmonaires considérés étaient la compliance spécifique (sCL) (rapport entre la compliance dynamique et la capacité résiduelle forcée) et le rapport entre le volume résiduel (RV) et la capacité pulmonaire totale (TLC).

L'étude animale leur ont permis d'établir des distributions de ces paramètres dans le groupe contrôle (non exposé à l'acroléine), et de définir arbitrairement un niveau seuil d'acceptabilité (AC10). Ce seuil est utilisé pour définir comme réponse indésirable toutes les valeurs supérieures ou égales au 90^{ème} centile de la distribution de la réponse dans la population non exposée.

Après avoir extrapolé les doses animales à l'Homme, autrement dit les concentrations d'acroléine utilisées dans l'étude animale en concentrations équivalentes humaines, les auteurs ont évalué le risque pour la santé humaine en calculant pour une exposition donnée, la fraction de la population qui sera affectée par une atteinte pulmonaire. Concernant l'exposition de la population générale, les auteurs ont utilisé la distribution des concentrations annuelles (1999) dans l'air extérieur estimées sur chaque unité géographique de recensement du territoire des Etats-Unis, par un modèle de dispersion à partir d'un inventaire national des émissions (données US-EPA issues du *National-Scale Air Toxics Assessment*).

Des excès de risque ont pu être calculés en comparant les niveaux de distributions correspondant respectivement au 5^{ème}, 25^{ème}, 50^{ème}, 75^{ème} et 95^{ème} percentile des concentrations estimées aux Etats-Unis en 1999 avec 3 seuils d'effets différents (AC10, AC2, et AC18), et pour une exposition urbaine et rurale. Ces deux derniers effets, correspondants respectivement au 98^{ème} et 82^{ème} centile de la distribution de la réponse dans la population non exposée, permettent d'approfondir l'analyse.

Ces excès de risque sont obtenus en comparant les aires sous la courbe correspondant aux distributions des réponses de la population exposée et de la population non exposée (Figure 6). L'excès de risque représente alors le pourcentage de distribution qui a été déplacée au-delà du seuil d'effet en raison de l'exposition à l'acroléine, c'est-à-dire aux effets adverses additionnels venant de cette exposition.

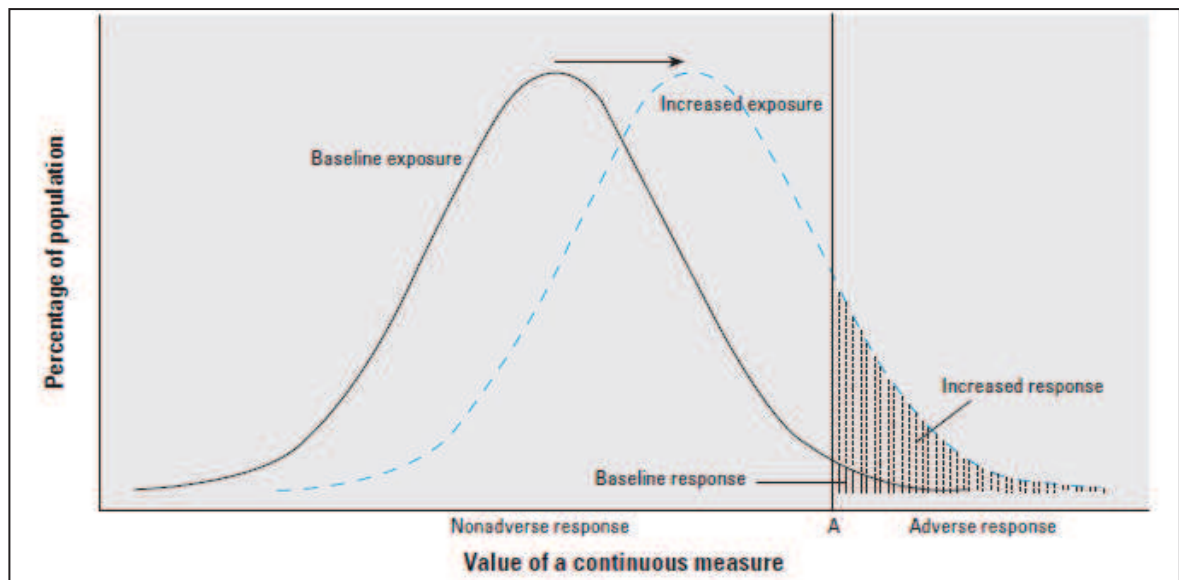


Figure 6 : Distribution de la vulnérabilité dans la population, d'après Woodruff *et al.*

Exemple d'une distribution de la réponse pour une population non exposée (courbe continue) et une population exposée (courbe en pointillés). La flèche indique la modification de la réponse moyenne entre les populations exposées et non exposées. Les aires rayées sous la courbe représentent la proportion de population dont la réponse dépasse un niveau « A » considéré anormal (Woodruff *et al.*, 2007).

Les résultats sont illustrés sous forme de box plot avec une distribution d'excès de risque (pour 1000 personnes) associés à une exposition d'acroléine (Figure 7).

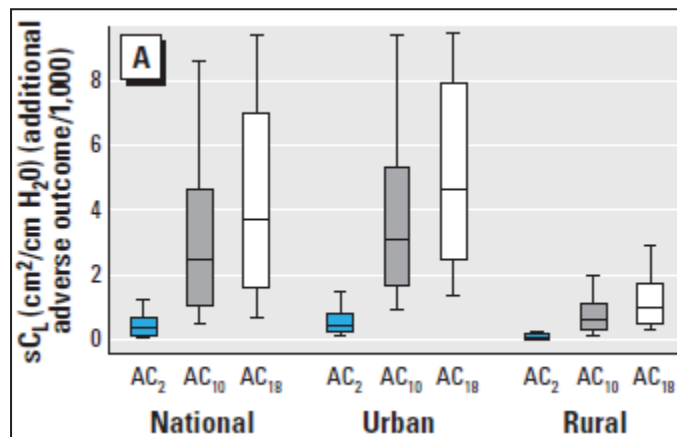


Figure 7 : Distribution d'excès de risque dans la population associée à une exposition, d'après Woodruff *et al.*

Distribution de la réponse « adverse » (paramètre pulmonaire sCL) en excès (pour 1000 personnes) estimée à partir des concentrations d'acroléine dans l'air ambiant aux Etats-Unis en 1999, pour 3 seuils d'effets différents (AC2, AC10, AC18) et pour une exposition urbaine et rurale. Sont représentés les 1^{er} et 3^{ème} quartiles (limites inférieure et supérieure de la boîte), la médiane (ligne dans la boîte) ainsi que les 10^{ème} et 90^{ème} percentiles (extrémités des « moustaches ») (Woodruff *et al.*, 2007).

Les niveaux d'acroléine sont plus élevés en milieu urbain qu'en milieu rural. Les individus susceptibles de répondre sont donc plus nombreux et en moyenne de 2,5 pour 1000 dans le cas du paramètre s_{CL} et de 0,002 pour 1000 pour le ratio RV/TLC.

La publication de Woodruff représente une nouvelle approche probabiliste intéressante dans un contexte où la concentration actuelle en acroléine dans certaines régions des Etats-Unis dépasse la VTR établie par l'US EPA. En prenant en compte la variabilité de l'exposition entre les individus d'une même population, la méthode de l'auteur apparaît plus proche de la réalité biologique par rapport à une approche à seuil. En effet cette dernière approche ne fournit pas de données sur la sévérité potentielle des effets indésirables ni la possibilité d'interpréter des concentrations gravitant autour de la VTR.

Cependant, l'étude se heurte à de nombreuses limites. La modélisation est menée à partir de données chez des rats sains, dont les paramètres de respiration sont bien différents de ceux de l'Homme et les ajustements utilisés (temporels et allométriques) ne sont pas toujours pertinents. Pour démontrer les altérations de la fonction pulmonaire, seuls deux paramètres sont utilisés, or l'acroléine a de multiples modes d'action. La susceptibilité individuelle est prise en compte mais de manière arbitraire grâce à la détermination d'un seuil dans la population non exposée.

De plus, les excès de risque sont basés sur des concentrations dans l'air ambiant extérieur alors que les niveaux de concentrations intérieures concernent plus d'individus et sont beaucoup plus élevés.

3.2.3 Relation dose réponse et évaluation du risque non cancérogène

3.2.3.1 Les travaux en faveur de l'approche probabiliste

De nombreux auteurs discutent la possibilité d'une nouvelle approche probabiliste pour caractériser la relation dose réponse des effets non cancérogènes.

Dès 1998, les travaux de Slob et Pieters formalisent l'approche, en définissent les entités que cela implique ainsi que l'enjeu statistique. Cette approche apparaît, d'un point de vue théorique, être une amélioration de l'approche actuelle (Slob and Pieters, 1998).

L'incertitude dans l'estimation des doses critiques chez l'animal et chez l'Homme sera quantifiée à l'aide de distributions d'incertitude par la méthode bootstrap.

La méthode bootstrap est une méthode de rééchantillonnage consistant à faire de l'inférence statistique sur de « nouveaux » échantillons tirés à partir d'un échantillon initial. Par exemple, en disposant d'un échantillon destiné à donner une certaine information sur une population, il est tiré au sort parmi la sous-population réduite à cet échantillon, un nouvel échantillon de même taille. Cette opération est ensuite répétée de nombreuses fois. Si chaque échantillon permet d'avoir une information sur la population, la différence entre les informations données par les différents réplicats reflétera l'incertitude liée à cette information.

Après avoir obtenu le modèle de régression des données obtenues chez l'animal, la méthode bootstrap, appelée aussi échantillonnage Monte Carlo, est utilisée pour générer un grand nombre de jeux de données artificielles à partir du modèle.

Pour chaque jeu de données généré, la dose critique (CED pour critical effect dose, c'est-à-dire la BMD)) est réestimée. Toutes les doses critiques générées mises en commun produisent une distribution.

Cette distribution qui en résulte peut être vue comme une extension de la Benchmark Dose (Slob and Pieters, 1998).

Elle sera ensuite combinée avec des distributions de facteurs d'incertitude pour donner la distribution de la dose correspondant à l'effet critique chez l'Homme. La VTR pourra finalement être calculée en choisissant le percentile le plus élevé de la distribution dans une approche conservatrice.

Cependant l'utilisation des percentiles pour l'estimation du risque dans l'approche probabiliste ne permet pas de garder l'information sur la *variabilité* et l'*incertitude* obtenue dans les deux premières étapes de l'évaluation (Bosgra et al., 2005).

Définissons dans un premier temps ces deux termes :

- La *variabilité*, se réfère aux réelles différences attribuables à une hétérogénéité vraie ou une diversité de population. Elle résulte de processus naturels aléatoires provenant de l'environnement, du style de vie, et des différences génétiques. La variabilité est une propriété fondamentale de la

population exposée, généralement non réductible par des mesures ou des études supplémentaires. Seule sa caractérisation peut être améliorée.

- L'*incertitude* fait référence à un manque d'information, une littérature incomplète ou des données incorrectes. Elle peut en principe être réduite par des études plus approfondies ou par des mesures supplémentaires.

En prenant l'exemple du di(2-ethylhexyl)phtalate, Bosgra intègre dans une même caractérisation du risque les distributions du danger et celles de l'exposition, en combinant respectivement l'incertitude avec la variabilité. Le résultat final de cette évaluation probabiliste du risque (Figure 8) est résumé à l'aide d'une seule courbe, contenant deux types d'information : la confiance que nous pouvons avoir en concluant qu'il n'y a pas de risque et la fraction de la population non concernée par ce risque.

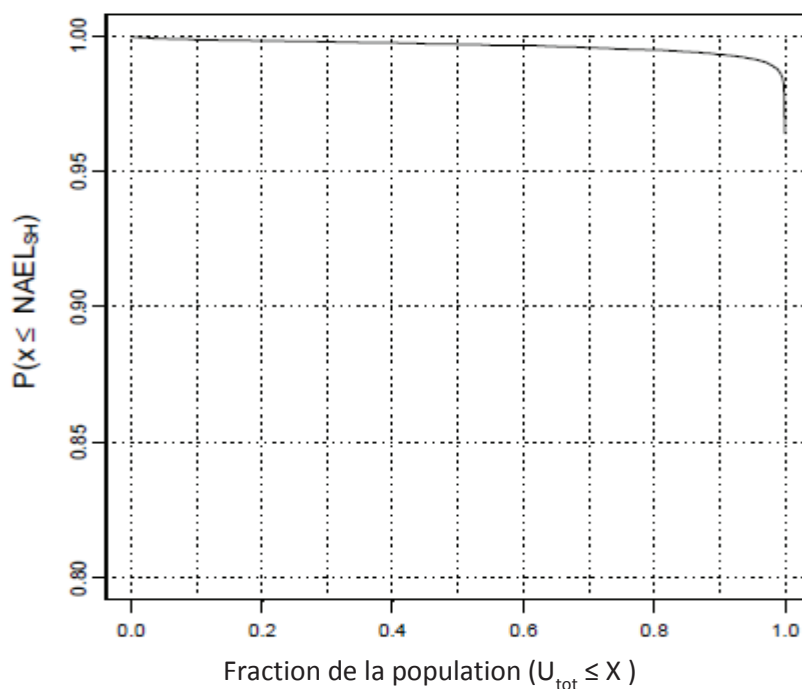


Figure 8 : Graphique représentant la caractérisation du risque du DEHP (Bosgra et al, 2005). Pour chaque fraction de la population exposée à une certaine concentration de DEHP (U_{tot}), la courbe montre le niveau de confiance à avoir (P) pour conclure sur le fait que l'exposition totale au DEHP (X) soit inférieure à la $NAEL_{sh}$ (dose maximale à laquelle aucun effet est observé chez les sous populations sensibles), autrement dit, la probabilité qu'il n'y ait pas de risque.

Par exemple le gestionnaire peut souhaiter attribuer un niveau de confiance de 99% qu'au moins 95% de la population ne soit pas à risque.

Pour l'auteur, les méthodes probabilistes facilitent la gestion des risques en répondant aux questions suivantes :

Est-ce que le risque concerne la majorité de la population ou seulement la population hautement exposée ? Quels paramètres contribuent le plus à la variabilité ?

L'approche déterministe exclut ce type d'information et ignore la possibilité d'établir une conclusion fausse sur le risque.

3.2.3.2 La critique de Crump (Crump et al., 2010)

Dans un article publié en 2010, Crump et ses collaborateurs reviennent sur la volonté du NRC d'utiliser des distributions de variabilité humaine dans certaines situations (cas du modèle 2) pour estimer la relation dose réponse aux faibles doses.

Selon les auteurs, réduire l'incertitude en utilisant des distributions de la variabilité interhumaine à la manière du NRC n'apparaît pas encourageant, pour plusieurs raisons.

Tout d'abord parce qu'il n'y a pas de raison de supposer que les distributions des réponses adverses chez l'Homme soient lognormales et de partir de cette hypothèse. D'autres distributions peuvent aussi bien modéliser les données et fournissent en plus des estimations du risque à faible dose qui diffèrent largement.

De plus la distribution lognormale se base sur le théorème central limite, or pour que son application soit possible, il faut que les variables (ou paramètres) produisant un effet indésirable soient indépendantes et se multiplient.

Les auteurs démontrent que les différentes variables physiologiques incluses dans le modèle n'interagissent pas toujours de manière indépendante et qu'il n'est pas pertinent d'un point de vue biologique de les multiplier.

Pour les auteurs, modéliser la distribution de la variabilité humaine doit donc être fait avec précaution, mais ils jugent qu'il y a moins d'incertitude avec les méthodes d'extrapolation linéaire utilisées dans les modèles 1 et 3.

En outre, l'estimation quantitative des risques basée sur le concept de seuil dans la population n'est pas très séduisante, pour deux raisons :

Premièrement, même dans les cas où il existe des seuils à l'échelle individuelle, il est peu probable qu'il existe des seuils dans la population. Deuxièmement, même s'il

existe un seuil à l'échelle de la population, il ne sera généralement pas possible d'établir des limites pour ces valeurs sans faire des hypothèses invérifiables.

3.2.3.3 *Débats autour de l'extrapolation linéaire aux faibles doses pour les effets non cancérogènes*

Le NRC préconise l'utilisation de l'extrapolation linéaire aux faibles doses pour les effets non cancérogènes dont on considère que la détermination d'un seuil à l'échelle de la population n'est pas possible, en raison de l'importance du *bruit de fond* en termes de pathologies ou d'exposition.

Cette justification en faveur de l'extrapolation linéaire fait l'objet d'un consensus entre de nombreux auteurs et évaluateurs, d'accords pour l'utiliser par défaut à la fois pour les substances cancérogènes et non cancérogènes et dans l'attente d'un meilleur modèle basé sur le mode d'action (White *et al.*, 2009).

D'autres auteurs n'y voient ni plus ni moins d'incertitude à utiliser cette extrapolation pour les effets non cancérogènes que pour les effets cancérogènes, étant donné qu'elle est déjà requise pour ces derniers effets (Clewell and Crump, 2005). Ils citent Hoel (Hoel, 1997) pour lequel la linéarité aux faibles doses apparaît être une hypothèse purement spéculative mais raisonnable à suivre dans un but de santé publique dans les cas où il n'y a pas la preuve d'un effet contraire.

Dale Hattis (Hattis, 2009) revient quand à lui sur la notion de seuil. En effet cette notion se justifie par le fait que nos systèmes biologiques seraient dans un état d'équilibre constant et nécessiteraient une perturbation d'une importance significative pour induire des effets significatifs.

Or cette justification n'est pas valide pour Hattis qui juge que les systèmes biologiques sont généralement dans un état de flux cyclique de différents types selon différentes échelles de temps et qu'en ce sens notre équilibre « homéostatique » est plutôt dans un état « à demi-stable » où l'apparence d'une stabilité ne peut être seulement que temporaire et dépendant d'un apport continu en énergie (Hattis, 2009).

Cependant, Rhomberg *et al.* (2011), dans un article en partie financé par le Conseil Chimique Américain, sont réfractaires à l'idée d'une utilisation par défaut et

généralisée de l'extrapolation linéaire aux faibles doses et tentent de contredire les arguments du NRC et de White *et al* (2009). Si l'utilisation de la linéarisation de l'effet à faible dose repose sur le fait qu'on admet une variabilité entre les individus et qu'on admet des processus de bruit de fond de pathologies avec lesquels les faibles doses interagissent, alors l'estimation du risque devrait donc plutôt reposer sur la compréhension et la déduction de ces facteurs dans la population. Ce n'est pas l'extrapolation aux faibles doses qui pourra apporter une quelconque information sur ce sujet.

La question est de savoir si la linéarité aux faibles doses est un effet plausible et suffisamment fréquent pour être pris en compte dans les politiques d'évaluation de risque.

Or l'argument de l'additivité à un bruit de fond pathologique ne peut pas engendrer cette linéarité selon Rhomberg *et al.* (2011), à moins d'un mode d'action de la substance très spécifique, avec des propriétés peu communes qu'il faudrait pouvoir identifier, mais qui dans tous les cas ne sont pas celles rencontrées pour la majorité des effets non cancérogènes.

Car contrairement aux mutations, où le changement d'état est relatif à un événement d'une seule molécule au niveau d'un seul locus, la génération de la toxicité non cancérogène est un processus complexe. C'est un processus qui mène à un état pathologique lorsqu'il y a une défaillance structurale et/ou physiologique des systèmes au niveau de l'organisme entier. Par ailleurs, la proposition d'une absence de seuil pour la toxicité de substances non cancérogènes est en contradiction avec toutes les relations dose-réponse établies depuis des décennies en pharmacologie et en toxicologie, mais aussi avec le principe d'homéostasie.

L'hétérogénéité dans la population ne peut pas non plus servir d'argument ; dans les investigations expérimentales, les variations dans les réponses individuelles à différentes doses fournissent les données sur la variation de sensibilité dans la population. Autrement dit la relation dose réponse est déjà en elle-même le reflet de l'expression de la susceptibilité humaine. En outre, les multiples facteurs de sensibilité combinés ne provoquent pas une linéarité de la courbe mais la rendent seulement lognormale.

Enfin, les auteurs sont d'accord pour dire que l'harmonisation des approches ne doit pas signifier qu'il faille trouver une méthode identique à appliquer à toutes les

substances à évaluer. Il est préférable d'étudier la relation dose réponse au cas par cas en apportant des informations sur le mode d'action (Rhombert *et al.*, 2011).

3.3 Etudes de cas

3.3.1 L'exemple du sulfure d'hydrogène

Le sulfure d'hydrogène est un gaz très toxique. C'est un irritant des voies respiratoires et un neurotoxique. La voie de pénétration du sulfure d'hydrogène est la voie pulmonaire (Anses, 2011).

Pour évaluer le risque par voie inhalée à long terme de cette substance selon deux types d'approches, l'approche actuelle à seuil, et selon une nouvelle approche prenant en considération les recommandations du NRC, nous partons d'une même étude clé, soit l'étude subchronique de 90 jours menée chez des rats et des souris, mâles et femelles (Dorman *et al.*, 2004).

L'objectif de cette étude est de caractériser les effets toxiques du sulfure d'hydrogène en exposant les animaux à 10, 30 et 80 ppm de sulfure d'hydrogène 6 heures par jour, pendant 90 jours. Nous nous intéressons dans notre cas à l'effet d'incidence d'une hypertrophie de l'épithélium bronchiolaire et d'hyperplasie chez des rats Sprague-Dawley (Tableau 1).

	Espèce Rat Sprague-Dawley (mâle)			
Concentration journalière d'exposition en H ₂ S (ppm)	0	10	30	80
Nombre d'animaux avec hypertrophie de l'épithélium bronchiolaire	3/10	4/10	6/10	8/10

Tableau 1: Incidence d'hypertrophie de l'épithélium bronchiolaire et de l'hyperplasie chez les rats Sprague-Dawley à la suite d'une exposition subchronique de 10, 30, 80 ppm d'H₂S (Dorman *et al.*, 2004).

Les données expérimentales sont modélisées grâce au logiciel BMDS, élaboré par l'US EPA. Il a été choisi un BMR(extra risk) de 10%, c'est-à-dire une augmentation de 10% des incidences de l'hypertrophie de l'épithélium bronchiolaire par rapport au groupe contrôle. La valeur de 10 % est une valeur de BMR par défaut, utilisée en partant du principe que 10 % de réponses équivalent en général à la limite de sensibilité de la plupart des études expérimentales menées pour des effets cancérigènes ou non-cancérigènes. Une valeur de BMR plus faible pourra par exemple être choisie pour des études à plus grande sensibilité telles que les études sur le développement (valeur de BMR standard égale à 5 %) ou les études épidémiologiques (valeur de BMR standard égale à 1%).

Plusieurs modèles mathématiques peuvent être utilisés via le logiciel BMDS. Certains modèles sont plus appropriés pour l'analyse des données quantales (par exemple : Gamma, Logistic, Log-Logistic, Multistage, Probit, Log-Probit), tandis que d'autres le sont plus pour l'analyse des données continues (ex : Linear, Polynomial).

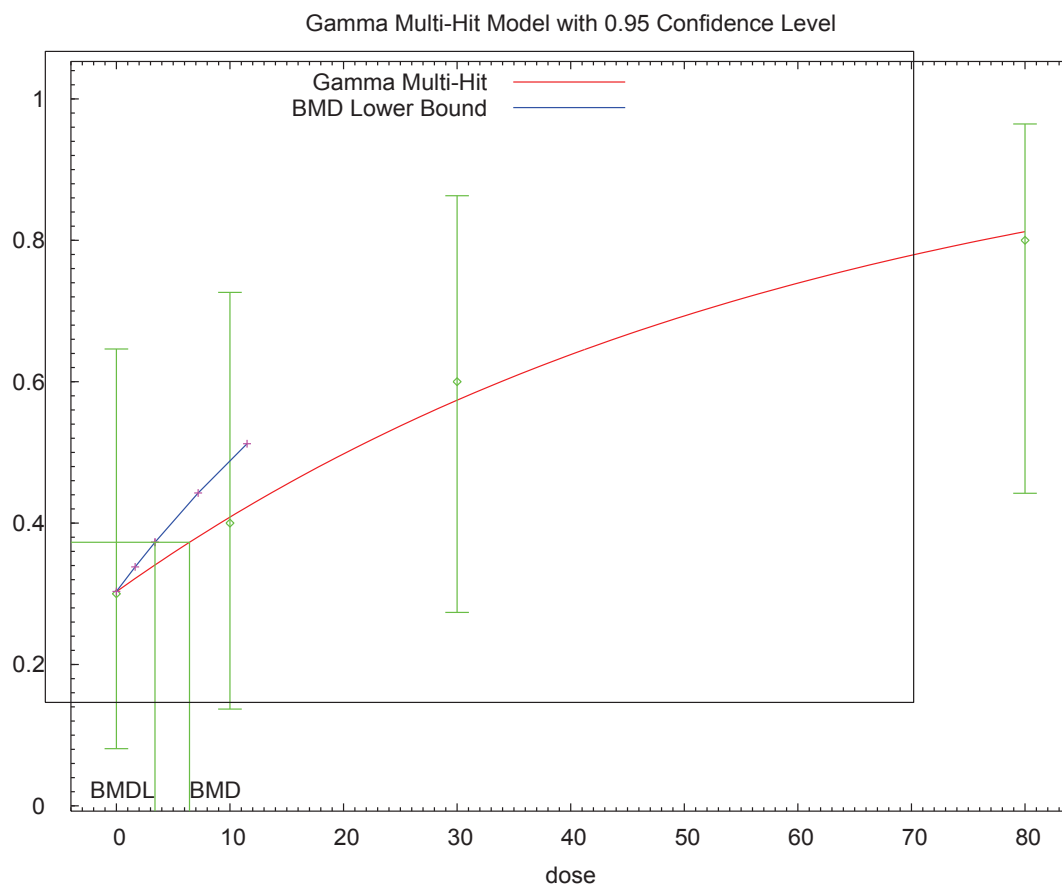
La sélection du modèle se fait en fonction du schéma expérimental (nombre de groupes de doses), du critère d'effet (quantal ou continu). D'autres variables et contraintes peuvent être ajoutées afin de réduire le nombre de modèles acceptables.

Le modèle retenu devra ajuster au mieux l'ensemble des données expérimentales, notamment dans la zone de la BMR. Le choix entre différents modèles se fera par la méthode du maximum de vraisemblance ($p \geq 0,1$) et le critère d'information Akaike (Akaike Information Criterion = AIC). Le meilleur modèle est celui possédant l'AIC le plus faible.

<i>model name</i>	<i>gamma</i>	<i>logistic</i>	<i>loglogistic</i>	<i>logprobit</i>	<i>multistage</i>	<i>probit</i>	<i>weibull</i>	<i>quantal-linear</i>
aic	53,1871	53,3982	55,1487	53,2685	53,1871	53,4212	53,1871	53,1871
goodness of fit	array	array	array	array	array	array	array	array
chi-square	0,04	0,25	0	0,12	0,04	0,27	0,04	0,04
df	2	2	1	2	2	2	2	2
p-value	0,9796	0,8821	0,9568	0,94	0,9796	0,8722	0,9796	0,9796
specified effect	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
risk type	extra risk	extra risk	extra risk	extra risk	extra risk	extra risk	extra risk	extra risk
bmd	6,43648	10,3001	6,86399	11,6799	6,43648	10,4668	6,43647	6,43647
bmdl	3,39814	6,33295	1,58344	5,78136	3,39814	6,76613	3,39814	3,39814
scaled residual of interest	-0,054	-0,01	-0,033	0,153	-0,054	-0,011	-0,054	-0,054

Tableau 2 : Résultats des différents modèles du logiciel BMDs. En rouge, la BMDL du modèle Gamma est retenu.

Le modèle Gamma dans notre cas a été retenu et utilisé pour calculer la dose critique. La dose critique $BMD_{10\%}$ est de 6,43 ppm. La limite de l'intervalle de confiance à 95% ($BMD_{10\%L_{95\%}}$) est égale à 3,39 ppm (cf figure 9).



14:51 06/19 2012

Figure 9 : Modélisation des données expérimentales avec l'équation Gamma et détermination de la BMD10L95 (Equation Gamma en rouge, Intervalle de Confiance en bleu).

Il est appliqué par la suite des ajustements allométriques et temporels à la BMDL.

L'ajustement allométrique conduit à la détermination d'une concentration équivalente humaine. Il permet de réduire la valeur des facteurs d'incertitude relatifs aux différences entre deux espèces.

Dans le cas de la détermination d'une VTR pour une exposition par inhalation, cet ajustement intervient en amont de l'utilisation des facteurs d'incertitudes.

Il a été développé pour tenir compte des variations observées entre différentes espèces de la dose réellement inhalée, en fonction de leurs paramètres physiques, anatomiques, physiologiques.

Pour la voie inhalée, différents types d'ajustements allométriques sont effectués en fonction de la nature de l'agent inhalé (particules ou gaz) et du site où sont observés les effets critiques (respiratoires ou extra-respiratoires).

Dans l'étude de Dorman, les animaux ont été exposés 6 heures par jour, 5 jours par semaine pendant au moins 90 jours, ce qui nécessite un ajustement temporel : la $BMD_{10\%L95\%ADJ}$ est égale à 0.61 ppm (soit $3,39 \text{ ppm} \times (6/24) \times (5/7)$).

La concentration équivalente humaine est calculée en utilisant l'équation pour les gaz de catégorie 1 (US.EPA, 1994) :

$$BMDL_{HEC} = BMDL_{ADJ} \times RDGR_{ET}$$

$RDGR_{ET}$ correspondant au « regional gas dose ratio » pour la région extrathoracique, qui est de 0,184. La $BMD_{10\%L95\% adj HEC}$ est égale à 0,112 ppm, ce qui équivaut à 0,168 mg/m³.

- *Approche déterministe*

Dans le cas d'une approche déterministe, la VTR est égale à la dose critique divisée par des facteurs d'incertitude.

$$VTR = PoD / UFs$$

Les facteurs d'incertitude utilisés pour dériver la VTR déterministe du sulfure d'hydrogène correspondent au facteur intraespèce UF_h^4 pour prendre en compte la variabilité humaine et le facteur interespèce UF_{aPD}^4 lié à la non prise en compte de la composante toxicodynamique UF_{PD} .

$$UFs = UF_h \times UF_{aPD} = 10 \times 2.5 = 25$$

$$VTR = PoD / UFs = BMDL_{HEC} / UFs = 0,0067 \text{ mg/m}^3 \text{ soit } 6,7 \text{ } \mu\text{g/m}^3$$

⁴ Selon les recommandations de l'Anses, le facteur UF_h prend en compte l'incertitude sur la variabilité interindividuelle. Cela permet d'estimer la valeur critique pour une population sensible. En absence de donnée sur cette variabilité, un facteur de 10 est appliqué par défaut. Le facteur UF_a prend en compte l'extrapolation interespèce. Il permet d'estimer la valeur critique dans la population humaine générale à partir de données toxicologiques chez les animaux. Sa valeur par défaut est de 10. Il se décompose en une composante toxicocinétique (4) et une composante toxicodynamique (2,5). L'ajustement allométrique prend en compte uniquement la composante toxicocinétique.

Pour évaluer le risque lié au sulfure d'hydrogène, cette VTR est ensuite comparée aux niveaux d'exposition dans le calcul du quotient de danger QD.

Si on prend un scénario d'exposition subchronique « pire cas », comme la situation des marées vertes avec les échouages massifs d'algues vertes sur les plages de Bretagne et du Cotentin, on trouve une concentration d'exposition en sulfure d'hydrogène de l'ordre de $42.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Anses, 2011).

Le quotient de danger QD est donc égal à 6.3, signifiant qu'il y a un risque pour la population de survenue d'effets sanitaires, à savoir d'hypertrophie des cellules de l'épithélium bronchiolaire. Mais ce risque est une estimation ponctuelle et n'est pas quantifiable. On ne peut pas connaître la fraction de la population susceptible d'être affectée par ce risque.

- *Nouvelle approche unifiée*

Il est possible de procéder à une extrapolation graphique jusqu'à l'origine du repère à partir de la dose critique BMD_{HEC} . L'excès de risque unitaire (ERU) peut être calculé de la manière suivante :

$$\text{ERU} = 0.10/\text{BMD}_{\text{HEC}} = 0.10/0.168 = 0.59 (\text{mg}/\text{m}^3)^{-1}$$

Le facteur UF_h intraespèce doit être ajouté pour prendre en compte l'incertitude sur la variabilité interindividuelle. On divise alors la BMD_{HEC} par un facteur 10 par défaut.

$$\text{ERU} = 5.9 (\text{mg}/\text{m}^3)^{-1}$$

Dans le cas d'une exposition par inhalation de l'ordre de $42.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$, il est alors possible de calculer un excès de risque individuel pour cette exposition :

$$\text{ERI} = (42.2 \times 10^{-3}) \times 5.9 = 0.25$$

On peut alors conclure que la probabilité qu'un individu a de développer une hypertrophie de l'épithélium bronchiolaire associée au sulfure d'hydrogène est de 2.5 sur 10 pour le scénario d'exposition initialement défini. Autrement dit, si on expose 100 personnes à cette dose d'exposition, 25 seront susceptibles de développer l'effet. Le risque associé à cette exposition est donc quantifiable.

- *Interêts et limites de la nouvelle approche*

Cette méthode permet d'harmoniser les deux approches de la façon la plus simple possible. On a une nette similitude avec la stratégie d'évaluation des substances cancérigènes sauf que l'effet critique retenu n'est pas relatif au cancer.

L'avantage de procéder ainsi, est qu'on peut évaluer la fraction de la population atteinte par le risque à partir de différents scénarios d'exposition. Une approche déterministe ne donne pas d'indication sur la sévérité des effets à différentes expositions ni sur la part de la population concernée par ces effets.

L'approche unifiée peut aider le gestionnaire à prendre plus facilement des décisions après avoir établi des études d'impact. En effet, la quantification des risques est une procédure essentielle pour l'analyse des coûts-bénéfices (Clewett and Crump, 2005).

La question est de savoir ensuite quel seuil désire-t-on attribuer pour un effet non cancérigène? Un seuil d'exposition à ne pas dépasser et jugé sans risque ou un excès de risque dans la population associé à une exposition donnée?

Cette méthode s'inscrit bien dans la volonté d'établir un unique plan d'aide à la transposition chez l'Homme mais néanmoins présente un certain nombre de limites.

D'une part, les données de « background » pathologique ou d'exposition dans la population ne sont pas investiguées. D'autre part, la variabilité interindividuelle n'est prise en compte qu'en utilisant un facteur d'incertitude UF_h empirique et non grâce aux distributions de paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

La question d'ajouter ce facteur d'incertitude UF_h ou non peut d'ailleurs être discutée. Dans les évaluations de risque liées aux substances cancérigènes (pour les composés génotoxiques), on ne tient habituellement pas compte de cette variabilité interindividuelle.

Il peut être aussi discuté comme pour la plupart des évaluations de risque liées aux substances cancérigènes, l'hypothèse faite d'une linéarité aux faibles doses.

3.3.2 L'exemple du para-chloronitrobenzène

Le para-chloronitrobenzène (pCNB) est utilisé comme intermédiaire de synthèse chimique. Il est retrouvé de manière accidentelle dans l'environnement, en particulier dans l'eau (exemple avec la contamination de la nappe d'Alsace). Du fait de ses propriétés physico-chimiques, la principale voie d'exposition chez l'Homme, hors

exposition professionnelle, semble être la voie orale (ingestion directe ou indirecte d'eau contaminée).

Le pCNB est hématotoxique lors d'expositions chroniques par voie orale (Afsset, 2009). Il est possible de retenir comme effet critique les signes biologiques d'une anémie tels qu'une diminution du nombre d'hématies, détaillées dans l'étude de Matsumoto (Matsumoto et al., 2006).

Rats F344				
DJE (mg. kg ⁻¹ .j ⁻¹)	Moyenne du nombre d'hématies (× 10 ⁶)	Ecart-type	n	Proportion de la distribution en deçà du cutoff (avec cutoff= 6.67× 10 ⁶)
0	8.13	0.73	36	0.00176
1.9	8.08	0.51	41	2.26e-05
9.8	6.88	1.48	38	0.28
53.8	4.94	0.8	28	0.91

Tableau 3 : Diminution du nombre d'hématies (moyenne du nombre d'hématies + écart-type) chez le rat F344 (Matsumoto et al., 2006). La dernière colonne représente les valeurs obtenues après transformation des données continues (diminution du nombre d'hématies) à l'aide de l'équation 1 : c'est l'approche hybride.

La valeur retenue comme « critique » est égale à 6,67.10⁶ hématies par µL, fixée sur la base de valeurs normales historiques de rats témoins (Descat, 2001). Cette valeur correspond précisément à la plus faible des valeurs d'hémogramme retrouvées parmi des rats Sprague-Dawley femelles âgées entre 7 à 10 semaines.

Ainsi,

$$6,67/8,13 \text{ (valeur pour le groupe témoin)} = 0,82 = \text{diminution de } 18 \%$$

Le niveau d'effet retenu (BMR) est donc une diminution de 18% du nombre d'érythrocytes par rapport au groupe contrôle.

- *Approche déterministe*

Les données expérimentales ont été ensuite modélisées à l'aide du logiciel Proast élaboré par le RIVM pour construire la $BMD_{18\%L90\%}$.

Le modèle s'ajustant le mieux aux données est le modèle exponentiel E4.

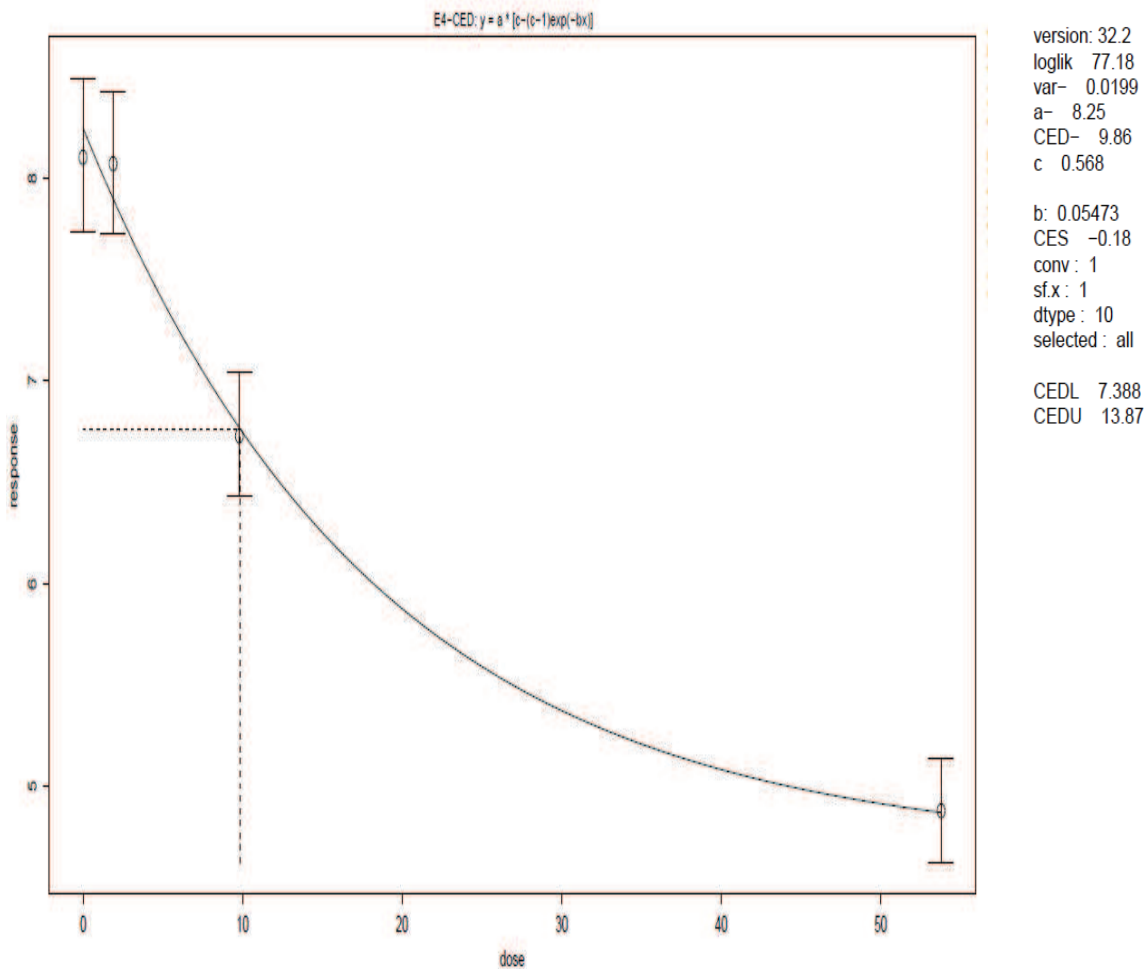


Figure 10 : Modélisation des données expérimentales avec l'équation exponentielle et détermination d'une $BMD_{18\%L90\%}$ pour le pCNB.

Les valeurs de $BMD_{18\%}$ et $BMD_{18\%L90\%}$ sont respectivement de 9,9 et 7,4 mg/kg.j⁻¹.

Dans l'étude, les animaux ont ingéré du P-CNB pendant deux ans, 7 jours sur 7. Aucun ajustement temporel n'est donc à prendre en compte. Il est cependant

nécessaire de faire un ajustement allométrique pour déterminer la dose équivalente humaine (ou EDH = *Human Equivalent Dose*).

L'ajustement allométrique consiste dans le cas d'une exposition par voie orale à ajuster les doses administrées par rapport au poids corporel. C'est une approche empirique supposant que les différences espèces auraient la même sensibilité à une dose donnée par unité de poids corporel. Elle repose sur l'hypothèse que les effets toxiques dépendent du taux métabolique, celui-ci ayant un impact sur certains paramètres physiologiques tels que le flux sanguin, l'irrigation du foie et des reins, lesquels influencent l'élimination des substances.

$$\text{Dose équivalente humaine} = \text{Dose animal} \times (\text{Poids animal}/\text{Poids Homme})^{1/4}$$

Soit, $\text{EDH} = 7,388 \times (0,350/70)^{1/4} = 1,96 \text{ mg/kg.j}^{-1}$ donc $\text{BMD}_{18\text{L}_{90}\text{AJ}} = 1,96 \text{ mg/kg.j}^{-1}$

Les facteurs d'incertitude utilisés pour dériver la VTR déterministe du P-CNB correspondent au facteur inter-espèce UF_{PD} égal à 2,5 pour la composante toxicodynamique et au facteur intra-espèce UF_{h} égal à 10.

$$\text{VTR} = 1,96/25 = 0,0784 = \mathbf{78,4 \mu\text{g/kg.j}^{-1}}$$

Cette valeur est une estimation de la dose à laquelle un individu peut être théoriquement exposé sans constat d'effet nuisible. Elle est exprimée en μg de pCNB ingéré par kg par jour. C'est une VTR basée sur les effets hématotoxiques.

Plusieurs situations d'exposition par ingestion d'eau contaminée peuvent être considérées pour évaluer le risque lié au pCNB. Suite à la contamination de la nappe d'Alsace au Nord de Mulhouse par des produits organiques provenant de deux sites industriels, un scénario d'exposition « pire cas » peut être envisagé. En 2010, la concentration maximale en pCNB est retrouvée au niveau d'un puit de prélèvement à proximité du site industriel. Elle est égale à $5800 \mu\text{g/L}$ d'après les analyses du 02 aout 2010 (Anses, avis 2010). A partir de cette valeur, nous pouvons calculer une Dose Journalière d'Exposition (DJE) :

$$\text{DJE} = (\text{C} \times \text{Q}) / \text{Pc} = (5800 \times 2) / 70 = \mathbf{165,7 \mu\text{g/kg.j}^{-1}} = 0,17 \text{ mg/kg.j}^{-1}$$

C = concentration du polluant estimée ($\mu\text{g/L}$)

Q = quantité ingérée par jour (L)

Pc = poids corporel (kg)

Le quotient de danger est employé pour les effets à seuil de dose dans une approche déterministe. C'est le rapport entre la dose d'exposition d'un individu et la dose sans effet estimée (VTR).

$$QD = DJE/VTR = 165,7/78,4 = 2,11$$

Dans une situation d'exposition par ingestion d'eau contaminée « pire cas », le quotient de danger est supérieur à 1. Cette exposition présente donc un risque pour la population de survenue d'effets hématotoxiques tels que la diminution du nombre d'érythrocytes, mais ce risque n'est pas quantifiable.

- *Nouvelle approche unifiée*

A partir de la distribution de l'incertitude (écart type) liée à chaque variable ou donnée continue (ici la moyenne du nombre d'érythrocytes), on cherche à avoir la proportion de la distribution qui serait en dessous du cutoff fixé pour la distribution du témoin. La valeur du cutoff correspond au choix de l'effet critique retenu pour l'étude, c'est-à-dire à $6,67 \times 10^6$ hématies par μL de sang. Ainsi, les données continues sont transformées en données quantales, c'est-à-dire en proportion d'animaux atteints (cf dernière colonne, Tableau 3). Cette procédure de transformation, évoquée dans la publication de Sand (Sand et al., 2008) est appelée « approche hybride » (cf méthode statistique Equation 1, et Figure 11).

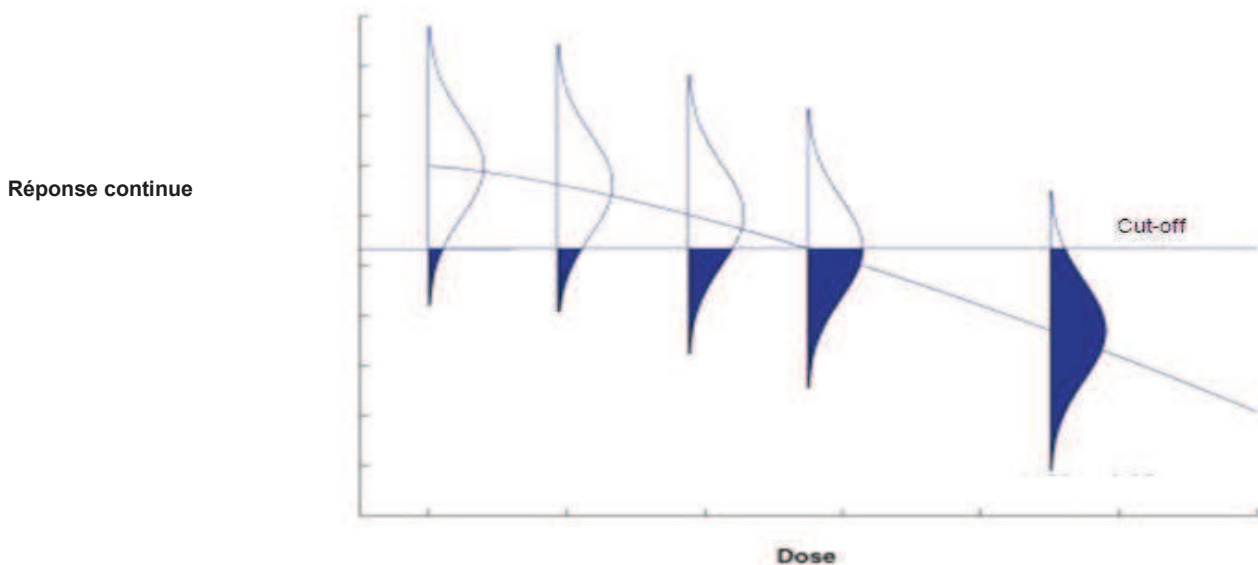


Figure 11 : Illustration de l'approche hybride dans le cas d'un effet continu hypothétique. Le cut-off représente une valeur d'effet adverse et correspond à un percentile de la distribution du témoin (généralement en queue de distribution). Les zones coloriées correspondent à $p(d_i)$ dans l'équation 1 (Sand et al., 2008).

Elle a été initialement appliquée à des effets neurologiques chez des singes et des rats exposés au 3,4-méthylène-dioxy-N-méthylamphétamine (MDMA) (Gaylor and Slikker Jr, 1990) puis à des critères neurocomportementaux de manière générale, ainsi qu'à certains effets systémiques tels que des changements relatifs du poids du foie chez la souris exposée au trichloroéthylène.

Pour transposer ce résultat chez l'Homme, on ajuste les doses animales en doses équivalentes humaines EDH.

De même que dans l'approche déterministe, l'ajustement temporel n'est pas à prendre en compte au vue des modalités de l'étude. Cependant, l'ajustement allométrique est nécessaire et doit être pris en compte à chacune des doses testées.

$$\text{Dose équivalente humaine} = \text{dose animale} \times (0,350/70)^{1/4}$$

Chacune des doses est ensuite divisée par un facteur d'incertitude égal à 25, prenant en compte le facteur inter-espèce UF_{PD} égal à 2,5 (composante toxicodynamique) et le facteur intra-espèce UF_h égal à 10.

Nous obtenons ainsi la relation dose réponse présentée en figure 12.

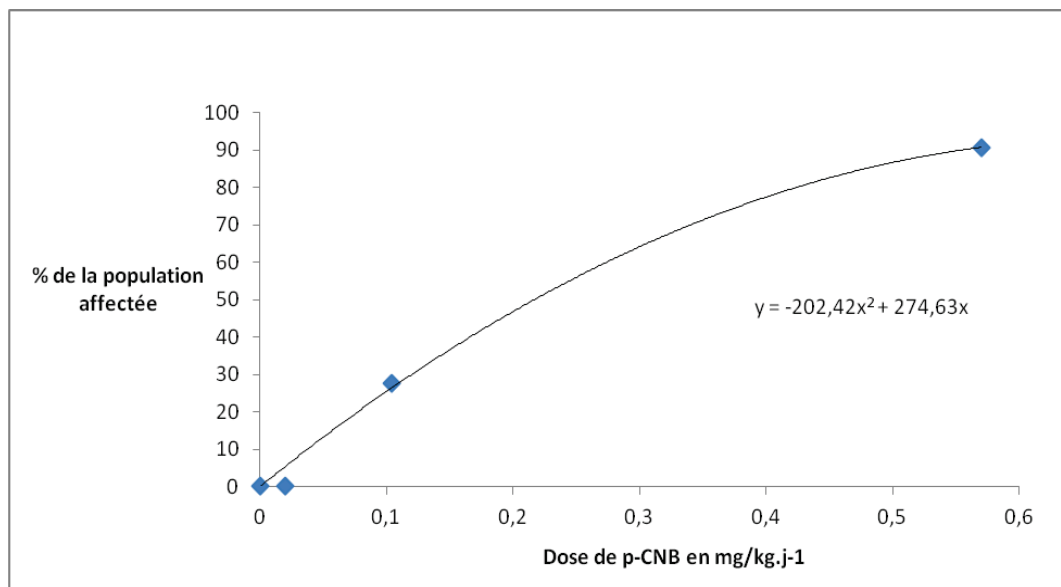


Figure 12 : Relation dose réponse du para-chloronitrobenzène après transformation des données continues de l'étude de Matsumoto (Matsumoto et al., 2006) en données quantales.

Dans le cas du scénario d'exposition décrit précédemment (contamination de la nappe d'Alsace), il est facile de calculer la valeur de y, la fraction de la population touchée par le risque.

Avec l'équation de la droite de régression obtenue ci-contre, x est remplacé par la Dose Journalière d'Exposition, égale à 0,17 mg/kg.j⁻¹, ce qui donne :

$$Y = (-202,42 \times 0,17^2) + (274,63 \times 0,17) = 40,8\%$$

Nous pouvons conclure qu'environ 41 % d'individus exposés au pCNB, selon le scénario d'exposition défini, seront susceptibles d'être affectés par une diminution de 18% du nombre d'hématies.

- *Interêts et limites de la nouvelle approche*

Cette nouvelle méthode permet d'évaluer les effets toxiques non cancérogènes à la manière des effets cancérogènes et permet à chaque dose d'exposition, d'associer une fraction de la population à risque. On a une nette similitude avec la stratégie d'évaluation des substances cancérogènes sauf que l'effet critique retenu n'est pas relatif au cancer.

Cette approche « hybride », permet d'incorporer l'incertitude liée à l'expérimentation avec l'utilisation des distributions des valeurs d'effets continus et prend en compte le bruit de fond pathologique en établissant un cutoff chez les témoins. Cette prise en compte du bruit de fond permet d'attribuer spécifiquement la probabilité de cas susceptibles d'être atteints en fonction de la dose d'exposition. On peut alors quantifier la « part » de la population à risque. L'US EPA a utilisé la même approche pour le calcul de la VTR du méthylmercure en 2001 (Sand et al., 2008).

Cette méthode s'inscrit bien dans la volonté d'établir un unique plan d'aide à la transposition chez l'Homme mais néanmoins présente un certain nombre de limites. De même que pour le sulfure d'hydrogène, il n'y a prise en compte de la variabilité interindividuelle humaine qu'avec l'utilisation du facteur d'ajustement empirique et non à l'aide des distributions des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, comme préconisé par le NRC.

La pertinence de l'effet critique choisi chez l'animal et l'hypothèse faite d'une linéarité aux faibles doses peuvent également être discutées.

3.3.3 L'exemple du benzène

Le benzène est un solvant inflammable et toxique. Il a été classé cancérogène certain (C1) par l'Union Européenne (INRS, 2010). L'exposition au benzène peut être consécutive aux situations suivantes :

- La fabrication, le transport, et l'utilisation du benzène dans l'industrie pétrolière, chimique et pétrochimique
- L'utilisation du benzène pur dans les laboratoires
- L'élaboration, le transport, la distribution et l'utilisation des carburants automobiles

- L'exposition au benzène « environnemental »

L'exposition chronique au benzène entraîne une toxicité pour les cellules sanguines et les organes qui les produisent telle que la moelle osseuse, ainsi que la survenue de leucémies.

Pour évaluer le risque hématotoxique lié à cette substance, une étude subchronique d'inhalation chez la souris (Ward et al., 1985) est sélectionnée.

Les souris CD-1 mâles sont exposées au benzène pendant 91 jours, 6 heures par jour et 5 jours par semaine.

L'effet critique retenu correspond à une diminution du pourcentage d'hématocrite par rapport au groupe témoin. L'effet mesuré est une variable continue (cf Tableau 4).

Souris CD-1 mâles			
concentrations d'exposition (mg.m ⁻³)	Nombre d'animaux	% d'hématocrite (moyenne +/- Ecart type)	Proportion de la distribution en deçà du cutoff (avec c = 30)
0	20	41.1 (1.61)	$2.704.10^{-12}$
3.2	20	38.4 (3.93)	$1.6.10^{-2}$
32	20	40.8 (3.22)	$4.0.10^{-4}$
96	20	38.4 (5.65)	$6.8.10^{-2}$
960	20	27.9 (4.75)	$6.7.10^{-1}$

Tableau 4 : Diminution du pourcentage d'hématocrite chez les souris CD-1 mâles suite à une exposition subchronique d'inhalation au benzène à 3,2, 32, 96 et 960 mg.m⁻³ (Ward et al., 1985). La dernière colonne représente les valeurs obtenues après transformation des données continues (diminution du pourcentage d'hématocrite) à l'aide de l'équation 1.

L'hématocrite exprime le rapport entre le volume occupé par les éléments figurés du sang et le volume sanguin total. L'hématocrite permet une classification de première importance pour l'investigation d'une anémie.

La valeur critique d'hématocrite retenue dans cet exemple équivaut approximativement à l'intervalle inférieur des valeurs d'hématocrites normales chez

la souris, et est égale à 30%. Elle correspond à une diminution de 27% du pourcentage d'hématocrite par rapport au groupe témoin :

$$41,1 - 30 = 11,1$$

$$(11,1/41,1) \times 100 = 27 \%$$

Il est donc retenu comme valeur critique (POD) une BMD_{27L90}. Suite à une modélisation des données du tableau, la BMD_{27L90} est égale à 222,5 mg.m⁻³.

Dans l'étude animale, les souris ont été exposées 6 heures par jour et 5 jours par semaine pendant 91 jours, ce qui nécessite un ajustement temporel pour chacune des doses d'exposition utilisées.

$$\text{BMD}_{27L90} \times 6/24 \times 5/7 = 39.6 \text{ mg.m}^{-3}$$

De même pour l'ajustement dosimétrique : le benzène est un gaz de catégorie 3 car il exerce une toxicité en dehors du tractus respiratoire. Selon l'US EPA, l'ajustement allométrique est un ratio des coefficients de partage sang/air entre l'animal et l'Homme (US.EPA, 1994).

Si le coefficient de partage sang/air est supérieur chez l'animal, une valeur de 1 par défaut est retenue pour le ratio des coefficients de partage sang/air entre l'animal et l'Homme. D'après Wiester (2002), les coefficients de partages sang/air pour l'Homme (Hb/g)_H et la souris (Hb/g)_A sont respectivement de 8,12 et de 17,44.

Soit,

$$\text{Dose équivalente humaine (mg.m}^{-3}\text{)} = \text{Doses [ADJ] (mg.m}^{-3}\text{)} \times [(\text{Hb/g})_A/(\text{Hb/g})_H]$$

$$\text{Dose équivalente humaine (mg.m}^{-3}\text{)} = \text{BMD}_{27L90} \times 1 = 39.6 \text{ mg.m}^{-3}$$

La dose est ensuite divisée par un facteur d'incertitude égal à 25, prenant en compte le facteur inter-espèce UF_{APD} égal à 2,5 (composante toxicodynamique) et le facteur intra-espèce UF_H égal à 10.

$$\text{VTR} = \text{BMD}_{27L90AJ} / \text{UFs} = 39.6/25 = 1.58 \text{ mg.m}^{-3}$$

Cette valeur est une estimation de la dose à laquelle un individu peut être théoriquement exposé sans constat d'effet nuisible. C'est une valeur d'exposition à ne pas dépasser. Elle est exprimée en mg de benzène par m³ d'air inhalé.

Plusieurs scénarios d'exposition d'inhalation au benzène peuvent être envisagés. Dans le cas d'une exposition subchronique au benzène dans les parcs de stationnement couverts, on trouve une concentration d'exposition de l'ordre de $120 \mu\text{g.m}^{-3}$ correspondant à une situation « pire cas » (Anses, 2010).

- *Approche déterministe*

Le quotient de danger peut être calculé dans le cadre d'une approche déterministe pour caractériser le risque lié à une exposition subchronique au benzène dans les parcs de stationnements.

$$\text{QD} = \text{DJE}/\text{VTR} = 0,12/1,58 = 0,076$$

Dans cette situation d'exposition « pire cas », le quotient de danger est inférieur à 1. Cette exposition ne présente donc pas de risque pour la population de survenue d'effets hématotoxiques voire anémiques tels que la diminution du pourcentage d'hématocrite.

- *Nouvelle approche unifiée*

A partir de la distribution de l'incertitude liée à chaque valeur d'hématocrite, on cherche ensuite à avoir la proportion de la distribution située en dessous d'un cutoff A, préalablement fixé (cf Figure 11).

Ainsi, les données continues sont transformées en données quantales, c'est-à-dire en proportion d'animaux atteints (cf dernière colonne, Tableau 4). Le cutoff correspond à une valeur d'hématocrite de 30% équivalent à une diminution de 27% du pourcentage d'hématocrite par rapport au groupe témoin.

Cette procédure de transformation se réfère à « l'approche hybride » (cf méthode statistique, équation 1).

Pour chacune des doses d'exposition utilisées, il est nécessaire de procéder à un ajustement temporel et dosimétrique (de la même manière que dans l'approche précédente).

Nous obtenons ainsi la relation dose réponse suivante en Figure 13.

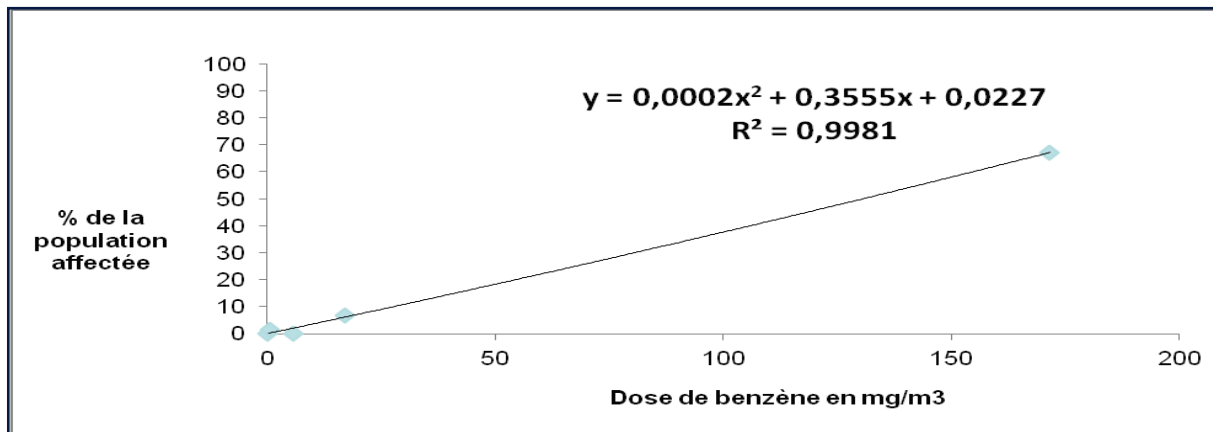


Figure 13 : Relation dose réponse du benzène obtenue après transformation des données continues de l'étude de Ward en données quantales.

En prenant le même scénario d'exposition utilisé dans l'approche déterministe, avec x la concentration d'exposition ($120 \mu\text{g.m}^{-3}$), il est facile de calculer la valeur de y à l'aide de l'équation de la droite, c'est-à-dire la fraction de la population atteinte par une diminution anormale du pourcentage d'hématocrite.

Le risque associé à cette dose est égale à 0.065%, ce qui signifie que la probabilité qu'un individu a d'être affecté par une diminution du pourcentage d'hématocrite associé au benzène est de 6.5 sur 10 000.

- *Intérêts et limites de la nouvelle approche*

La nouvelle approche utilisée dans le cas du benzène est réalisée selon la même démarche que celle du parachloronitrobenzène. On y retrouve les mêmes intérêts et les mêmes limites.

Grâce à l'approche hybride, l'estimation de la BMD à partir de données continues devient méthodologiquement comparable à l'estimation de BMD fondées sur des données quantales. La relation dose-réponse obtenue permet d'associer à chaque dose d'exposition, une probabilité de « cas » susceptibles d'être atteints par le risque.

4 Discussions

4.1 Discussion générale sur le projet d'harmonisation

4.1.1 Les limites et possibles difficultés de l'approche

Le projet d'harmonisation lancé par le NRC a suscité de nombreuses discussions et débats. L'analyse de la littérature montre que les interprétations ont souvent été bien différentes les unes des autres, en partie à cause du contenu et du format final du NRC. Des points de vue divergent sur l'intérêt d'une harmonisation.

De plus, l'harmonisation telle que le préconise le NRC, nécessite d'analyser en profondeur le terrain, désigné en anglais comme le « background », c'est-à-dire le nombre de sources d'exposition, l'état de santé et l'âge de l'individu, et d'autres paramètres qui génèrent la variabilité.

Les évaluateurs et gestionnaires de risque devront pour cela être formés grâce aux agences sanitaires qui devront trouver un consensus et fournir ensuite les méthodes de cette analyse.

Cependant, une des difficultés majeures du plan d'harmonisation est le manque de données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques pour établir les distributions reflétant la variabilité au sein de la population pour la substance considérée.

4.1.2 Recommandations et perspectives

Ce projet s'inscrit néanmoins dans de nouvelles perspectives d'évolution de la démarche d'évaluation des risques.

L'intention du NRC est de recommander l'harmonisation des deux méthodes d'évaluation des risques par défaut de façon à ce que l'évaluateur commence à ne considérer qu'un seul et unique modèle de relation dose réponse.

L'harmonisation se réfère à une approche d'évaluation plus cohérente d'un point de vue biologique. Selon l'IPCS : « *Bien que certains événements clés sont spécifiques aux substances cancérogènes ou aux substances non cancérogènes, un mode*

d'action cancérigène peut mener à des effets toxiques dans de multiples organes, et devrait être considéré en même temps dans l'analyse du mode d'action des substances non cancérigènes ». C'est l'évaluation du mode d'action qui est l'étape majeure du plan d'harmonisation du NRC (Hegstad, 2010).

Mais il y a besoin d'un consensus pour appliquer de façon générale l'extrapolation aux faibles doses pour les modes d'action non cancérigènes (Clewell and Crump, 2005).

Pour contourner les limites liées aux manques de données, le NRC recommande à court terme le développement d'approches par défaut, telles que :

- L'extrapolation linéaire aux faibles doses pour les substances chimiques qui présentent un « background » important (modèle 1 et 3).
- Les distributions de variabilité interindividuelle par défaut (modèle 2).

Par ailleurs, le NRC souligne l'effort de collecte et d'analyse de la plupart des données cliniques humaines entrepris par Hattis (Hattis and Lynch, 2007), sur lesquelles le Comité du NRC s'appuie pour élaborer les modèles.

Cependant, même si cela représente un début utile pour l'analyse, le Comité reconnaît que toutes ces données ne pourront jamais capturer le spectre de la variabilité dans sa globalité au vu des nombreuses différences d'âge, des différences génétiques, de nutrition, de maladies, de prise de médicaments et d'exposition.

Néanmoins, le NRC suggère d'appliquer à la molécule d'intérêt des variables pharmacodynamiques connues pour certains produits chimiques, soit par analogie structurale, soit lorsqu'elle appartient à la même classe chimique.

La recherche devra ensuite jouer son rôle pour combler ces lacunes grâce notamment aux études épidémiologiques et à l'utilisation de biomarqueurs d'exposition et d'effets.

Beaucoup de travaux ont d'ailleurs été menés dans le but d'explorer la faisabilité de ce projet, et de nombreuses publications testent l'approche probabiliste (Axelrad et al., 2007; Evans et al., 2001; Simon et al., 2008; Woodruff et al., 2007).

De plus en plus d'auteurs proposent des distributions de facteurs d'ajustements. Leurs méthodes pour obtenir ces distributions ne sont cependant pas toujours identiques : certains auteurs utilisent la simulation Monte Carlo et d'autres utilisent des techniques statistiques standard (Hasegawa et al., 2010).

Hasegawa propose notamment de nouveaux facteurs d'ajustements (facteurs interespèces basés sur la différence de taille, facteurs intraespèces chez l'animal, facteurs d'incertitudes liés à la durée de l'étude et au choix de la dose). Ces nouveaux facteurs sont calculés de façon probabiliste, en combinant les distributions établies à l'aide de données réelles.

On assiste donc à une réelle prise d'initiatives pour collecter les données manquantes. Les recommandations à court terme du NRC concernant le développement d'approches par défaut ont pour but d'encourager cette collecte.

Des travaux sont déjà menés à l'US EPA pour inclure les éléments de cette approche dans les évaluations de risque.

4.2 Evolution de la démarche d'évaluation des risques au sein de l'US EPA

Dans un draft du 12 Juillet 2012, l'US EPA, en réponse au document du NRC, annonce l'établissement d'un nouveau cadre de conduite des évaluations des risques liés à la santé humaine (US EPA, 2012).

Ce document ne vise pas à remplacer les orientations actuelles de l'US EPA en matière d'évaluation des risques mais plutôt à renforcer l'utilité de la démarche actuelle d'évaluation des risques.

Il met en évidence l'importance d'une phase préliminaire de planification et de définition des objectifs. En effet, un certain nombre de contraintes doit être pris en compte: considérations légales, besoins techniques, contraintes de temps, mesures de gestions de risques possibles. Un des objectifs essentiels étant, *in fine*, de définir le niveau de complexité requis pour informer les décideurs. Selon les différentes contraintes, le choix de mener une évaluation par screening, plutôt qu'une évaluation déterministe ou probabiliste devra être fait.

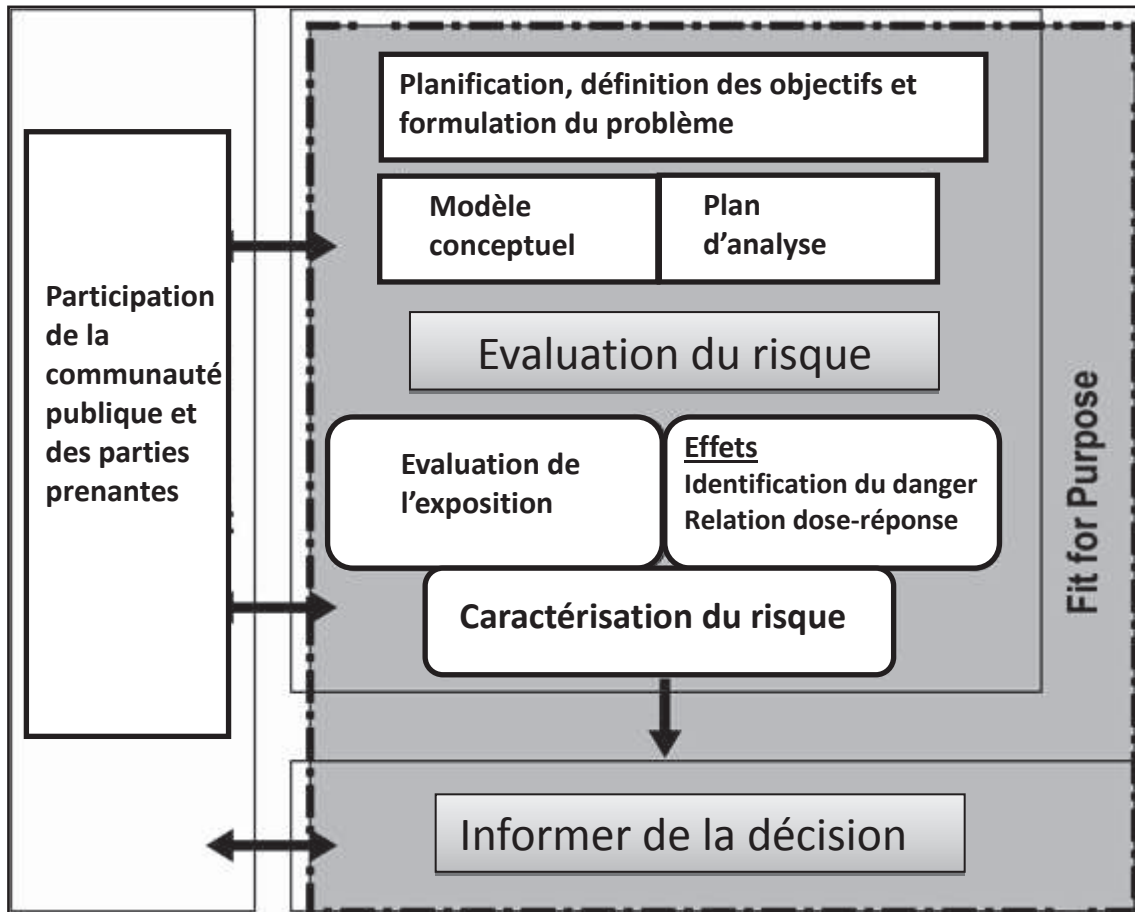


Figure 14 : Document cadre de l'évaluation des risques sanitaires vers l'information de la décision

Cette phase d'identification des ressources et de formulation du problème pourra être adaptée tout au long de la démarche d'évaluation des risques par les évaluateurs ou les gestionnaires de risque. C'est le « fit for purpose ».

Des outils de modélisation pourront donc être utilisés pour affiner les résultats dans une démarche plus complexe d'évaluation probabiliste du risque. Cependant, l'US EPA évoque le fait que la quantification probabiliste de l'incertitude et de la variabilité peut aussi inclure un élément additionnel d'incertitude (lié aux hypothèses émises pour la détermination des distributions de probabilité des paramètres d'entrée par exemple). Il est donc primordial d'adapter au cas par cas la manière de caractériser le risque au contexte et à la décision finale.

De fait, la communication des résultats provenant d'une évaluation probabiliste du risque requiert une attention particulière.

L'information sur l'incertitude et la variabilité doit être explicitement apportée de façon à influencer en toute transparence la décision du gestionnaire.

C'est pourquoi, selon l'US EPA, il est nécessaire qu'évaluateurs et gestionnaires puissent interagir tout au long du processus d'évaluation du risque.

5 Conclusion

Le National Research Council a publié fin 2008 un certain nombre de pistes de réflexions et de recommandations visant à améliorer les pratiques en évaluation des risques sanitaires, incluant l'harmonisation des approches à seuil et sans seuil dans l'étude des relations dose-réponse. Une des conséquences importantes de cette nouvelle démarche est la redéfinition de la VTR, appelée alors « RsD » pour « risk-specific dose » qui doit permettre d'associer un niveau de risque à une dose.

Le Comité recommande dans un premier temps une approche « flexible » à partir des trois modèles conceptuels qu'il propose. Ainsi, en fonction des données sur la substance, de son mode d'action, du bruit de fond d'exposition ou de la vulnérabilité, l'un des trois modèles sera retenu.

Dans ses conclusions, le NRC souligne l'importance d'acquérir de nouvelles données de pharmacodynamie et de pharmacocinétique et d'utiliser pour cela les informations provenant d'études épidémiologiques, de la littérature pharmacologique et clinique ou de données biométriologiques. Il suggère à l'US EPA de développer un document guide d'analyse de la relation dose réponse unifiée, ainsi que des études de cas pour explorer la nouvelle démarche.

Les études de cas présentées dans ce rapport ont également pour but de tester la faisabilité d'une approche harmonisée entre effets cancérigènes et non cancérigènes, en y adaptant les concepts du NRC. Les doses d'exposition journalière ont été choisies ou calculées dans le cadre d'un scénario « pire cas » et l'évaluation des risques qui en découle n'a pas de portée réglementaire.

A travers ces exemples, les conclusions sur le risque apparaissent plus informatives. La démarche de quantification des risques permet pour les effets non cancérigènes d'avoir un regard sur la relation dose réponse dans son ensemble. Il est plus facile d'« appréhender » ce qu'il peut se passer en termes de risques au dessus de la valeur seuil, si elle existe. Cette approche apparaît utile et réalisable par les évaluateurs de risque dans les cas où un simple quotient de danger ne suffit plus. Elle nécessite cependant des données solides sur la relation dose réponse et sur les concentrations d'exposition.

Une meilleure connaissance de la variabilité et de la susceptibilité individuelle au sein de la population pourra ensuite permettre d'affiner la caractérisation des risques.

L'évaluation des risques sanitaires est une discipline récente, dont le cadre structurel est certainement amené à évoluer au fil des ans.

Cependant son objectif reste le même : en servant d'outil d'aide à la décision, elle a pour but d'explicitier l'incertitude et de la réduire.

Elle met à disposition de façon transparente et explicite l'information scientifique, et permet de rendre compte des manques de connaissances pour définir les priorités d'actions de santé publique et de recherches.

6 Bibliographie

- Afsset** Le benzène: valeurs guides de qualité d'air intérieur. *Rapport d'expertise collective* 89, 2008
- Afsset** Elaboration de VTR chroniques par voie orale pour les isomères ortho, méta, et para du chloronitrobenzène. *Rapport d'expertise collective* 95, 2009
- Afsset** Elaboration des valeurs toxicologiques de référence. *Guide méthodologique* 37, 2010
- Afsset** Evaluation quantitative des risques: Principes, Intérêts et Limites. *Fiche technique*, 2006
- Anses** Activités professionnelles et qualité de l'air des parcs de stationnement couverts. *Rapport d'expertise collective* 213, 2010
- Anses** Avis relatif à l'élaboration de valeurs limites dans les eaux destinées à la consommation humaine pour les isomères ortho, métha et para du chloronitrobenzène. *Saisine n°2010-SA-0266*, 2010
- Anses** Risques liés aux émissions gazeuses des algues vertes pour la santé des populations avoisinantes, des promeneurs et des travailleurs. *Rapport d'expertise collective* 253:85, 2011
- Axelrad D.A., Bellinger D.C., Ryan L.M., Woodruff T.J.** Dose-response relationship of prenatal mercury exposure and IQ: An integrative analysis of epidemiologic data. *Environmental Health Perspectives* 115(4):609-615, 2007
- Baird S.J.S.** Non-cancer risk assessment a probabilistic alternative to current practice. *Human EcolRisk Assess*(2):79, 1996
- Bosgra S., Bos P.M.J., Vermeire T.G., Luit R.J., Slob W.** Probabilistic risk characterization: An example with di(2-ethylhexyl) phthalate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 43(1):104-113, 2005
- Clewell H.J., Crump K.S.** Quantitative estimates of risk for noncancer endpoints. *Risk Analysis* 25(2):285-289, 2005
- Crump K.S., Chiu W.A., Subramaniam R.P.** Issues in using human variability distributions to estimate low-dose risk. *Environmental Health Perspectives* 118(3):387-393, 2010
- Descat F.** Hématologie du rat: hémogramme et myelogramme. *Thèse Ecole Nationale Vétérinaire*, 2001
- Dorman D.C., Struve M.F., Gross E.A., Brenneman K.A.** Respiratory tract toxicity of inhaled hydrogen sulfide in Fischer-344 rats, Sprague-Dawley rats, and B6C3F1 mice following subchronic (90-day) exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology* 198(1):29-39, 2004
- Evans, J.S.; Baird, S.J.S.** Accounting for Missing data in Noncancer Risk Assessment. *Human and Ecological Risk Assessment* (4), 291-317, 1998
- Evans J.S., Rhomberg L.R., Williams P.L., Wilson A.M., Baird S.J.** Reproductive and developmental risks from ethylene oxide: a probabilistic characterization

- of possible regulatory thresholds. *Risk analysis : an official publication of the Society for Risk Analysis* 21(4):697-717, 2001
- Gaylor D.W., Slikker Jr W.** Risk assessment for neurotoxic effects. *NeuroToxicology* 11(2):211-218, 1990
- Hasegawa R., et al.** Proposal of new uncertainty factor application to derive tolerable daily intake. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 58(2):237-242, 2010
- Hattis D.** High-throughput testing - The NRC vision, the challenge of modeling dynamic changes in biological systems, and the reality of low-throughput environmental health decision making Commentary. *Risk Analysis* 29(4):483-484, 2009
- Hattis D., Baird S., Goble R.** A straw man proposal for a quantitative definition of the RfD. *Drug and chemical toxicology* 25(4):403-36, 2002
- Hattis D., Lynch M.K.** Empirically observed distributions of pharmacokinetic and pharmacodynamic variability in humans: Implications for the derivation of single point component uncertainty factors providing equivalent protection as existing RfDs. *Toxicocinetics and Risk Assessment*:69-93, 2007
- Hegstad M.** Two Years On, Assessors Urge NAS To Clarify Advice On Linear Risk Method. *Inside EPA's Risk Policy Report* 17(43), 2010
- Hoel D.** Invited Commentaries to the Heitzmann and Wilson Article: David G.Hoel. *BELLE Newsletter* 6, 1997
- INRS** Le benzène - Dossier INRS. 5, 2010
- Lan Q., et al.** Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science* 306(5702):1774-1776, 2004
- Matsumoto M., et al.** Carcinogenicity and chronic toxicity of para-chloronitrobenzene in rats and mice by two-year feeding. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 25(3):571-584, 2006
- NRC** Science and Decisions: Advancing Risk Assessment. 423, 2009
- Rhomberg L.R., et al.** Linear low-dose extrapolation for noncancer health effects is the exception, not the rule. *Critical Reviews in Toxicology* 41(1):1-19, 2011
- Sand S., Victorin K., Filipsson A.F.** The current state of knowledge on the use of the benchmark dose concept in risk assessment. *Journal of Applied Toxicology* 28(4):405-421, 2008
- Simon T., Kirman C.R., Aylward L.L., Budinsky R.A., Rowlands J.C., Long T.F.** Estimates of Cancer Potency of 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran Using Both Nonlinear and Linear Approaches. *Toxicological Sciences* 106(2):519-537, 2009
- Slob W., Pieters M.N.** A probabilistic approach for deriving acceptable human intake limits and human health risks from toxicological studies: general framework. *Risk analysis : an official publication of the Society for Risk Analysis* 18(6):787-98, 1998
- US.EPA** Methods for derivation of inhalation reference concentrations and application of inhalation dosimetry. *Environmental Protection Agency* 409, 1994
- US.EPA** Framework for Human Health Risk Assessment to Inform Decision Making. *EPA external review draft* 74, 2012

- Ward C.O., Kuna R.A., Snyder N.K.** Subchronic inhalation toxicity of benzene in rats and mice. *American Journal of Industrial Medicine* 7(5-6):457-473, 1985
- White R.H., et al.** State-of-the-science workshop report: Issues and approaches in low-dose-response extrapolation for environmental health risk assessment. *Environmental Health Perspectives* 117(2):283-287, 2009
- Woodruff T.J., Wells E.M., Holt E.W., Burgin D.E., Axelrad D.A.** Estimating risk from ambient concentrations of Acrolein across the United States. *Environmental Health Perspectives* 115(3):410-415, 2007

ANNEXES

Annexe 1 : Grille de lecture pour la recherche « dose response relationship AND noncancer risk assessment » (aperçu de 10 articles)

Titre de la publication	Auteur(s)	Année	Méthodes	Résultats/Conclusion	Commentaires
Dose–Response Relationship of Prenatal Mercury Exposure and IQ : An Integrative Analysis of Epidemiologic Data	Axelrad	2007	Utilisation des coefficients de régression et des écarts types des droites de régression de trois études épidémiologiques utilisés pour la relation dose réponse entre QI et traces de mercure dans les cheveux des mères => Estimation du coefficient standardisé pour la distribution du QI standard hypothétique (nb : correspondant donc à la distribution du paramètre chez les exposés)	Baisse égale à - 0.18 points du QI pour chaque ppm de mercure dans les cheveux des mères	Utilisation de la linéarité dans cette analyse (effet non cancérogène) et non l'approche à seuil paraît être très recevable étant donné le bruit de fond d'exposition et de facteurs de prédisposition (ici, âge +++) Limites: biais liés à l'utilisation du QI, liés à l'estimation de l'expo
Estimating risk from Ambient Concentrations of acrolein across the United States	Woodruff	2007	Quantification du risque lié aux particules d'acroléine dispersées dans l'air sur le potentiel respiratoire de l'Homme Estimation de l'excès de risque associé, à partir des résultats d'une étude de modélisation de la relation dose réponse chez des rats (Costa et al, 1986) entre acroléine et marqueurs de l'altération de la	Ss forme de Box plot avec une distribution d'excès de risque (pour 1000 personnes) associés à une exposition d'acroléine dans l'air ambiant aux Etats Unis en 1999. Calcul de 3 seuils d'effets différents (AC2, AC10, AC18) et pour une population urbaine et rurale.	Nouvelle approche PROBABILISTE permettant d'estimer les effets adverses additionnels dans une population dont l'exposition est plus importante par rapport à une population de base (ou population non exposée) et donc l'excès de risque associé Limites: Modélisation à partir de données chez des rats mâles de laboratoire donc sains et Utilisation de deux paramètres

			fonction respiratoire		d'effets qui ne suffisent pas pour démontrer des altérations irréversibles de la fonction pulmonaire
Probabilistic risk characterization: An example with di(2-ethylhexyl) phthalate	Bosgra	2005	Intégration dans une même caractérisation du risque des distributions du danger et celles de l'exposition, en combinant respectivement l'incertitude avec la variabilité. Utilisation de données d'une étude faite chez des rats exposés au DEHP durant trois générations pour déterminer la POD (relatif à ces effets sur l'appareil reproducteur) et modéliser la relation dose réponse. Obtention de la NAELsh en divisant la POD/distributions de EFinter et EFintra en utilisant Monte Carlo. Utilisation des différentes sources d'expo pour établir des distributions	Caractérisation du risque: pour chaque fraction donnée de la population le niveau de confiance à avoir pour conclure sur le fait que l'exposition au DEHP soit inférieure à la NAELsh, cad la probabilité qu'il n'y ait pas de risque. Par exemple on peut conclure que pour 95% de la population la probabilité que l'exposition soit inférieure à la NAELsh serait approximativement de 99%.	Méthode permettant d'éviter l'utilisation des percentiles pour l'estimation du risque dans l'approche probabiliste Utilisation de toute l'info disponible qui consiste à dire quelle fraction de la population est touchée par ce risque et à quel niveau de fiabilité je me situe pour le dire Par exemple le gestionnaire peut désirer d'attribuer un niveau de confiance de 95% qu'au moins 95% de la population ne soit pas à risque.

Linear low-dose extrapolation for noncancer health effects is the exception, not the rule	Rhomberg	2011	Revue critique dans lequel les auteurs reviennent sur les trois arguments mis en avant (par le NRC et White et al en 2009) pour justifier l'utilisation de la linéarité aux faibles doses pour les effets non cancérogènes que sont l'effet additif à un bruit de fond, l'hétérogénéité dans la population et une revue épidémiologique ne montrant pas de seuil aux faibles doses chez les Hommes.	Les auteurs ne sont pas d'accord avec une utilisation par défaut et de manière générale de cette extrapolation linéaire. Selon eux le premier argument ne peut pas permettre la linéarité à moins d'un mode d'action de la substance très spécifique, avec des propriétés peu communes qui ne sont pas celles rencontrées pour la majorité des effets non cancérogènes. Le deuxième élargirait seulement la relation dose réponse mais ne provoquerait pas de linéarité. Le troisième serait plutôt du à une source d'erreur au niveau de la mesure de l'exposition dans ces études épidémiologiques.	Revue qui répond à l'article de White et al (2009) et aux recommandations du NRC et qui apporte de nombreuses critiques. En conclusion, les auteurs suggèrent d'examiner les relations dose réponse cas par cas pour explorer cette question de linéarité plutôt que d'invoquer des principes universels sans fondements pratiques. Déclarations d'intérêts ?? Papier financé par American Chemistry Council ??
A Probabilistic Approach for Deriving Acceptable Human Intake Limits and Human Health Risks from Toxicological Studies: General Framework	Slob and Pieters	1998	Détermination de la CED animale provoquant une inhibition de l'activité cholinestérasique de l'érythrocyte à partir des données ==> en choisissant 20% de réduction comme effet critique. Obtention de la distribution de la CED animal en utilisant la méthode bootstrap, ce qui permet de quantifier l'incertitude de cette dose chez l'animal. Cette distribution est combinée avec les distributions des facteurs d'incertitude, ce qui donne la distribution de la CED chez l'Homme	En déterminant le premier percentile (le plus haut) de cette distribution on trouve une VTR=0.8 µg/kg, ce qui est 4 fois plus élevé que la VTR classique = 0.2µg/kg D'un point de vue THEORIQUE l'approche probabiliste semble donc être une amélioration de l'approche actuelle (on est moins protecteur)	1 ^{ers} travaux sur la possibilité d'une approche probabiliste Points important auteurs: La différence essentielle entre des données de réponse continue et quantale est que la première permet de choisir la valeur de l'effet critique après l'analyse des données alors que pour la deuxième le choix est déjà fait par l'observateur qui la définit de manière implicite en faisant la distinction entre répondants et non répondants. Les auteurs préfèrent les données d'effet continues. La distribution résultante de la CED peut être vue comme une extension de la BMD

			sensible représentant l'incertitude scientifique associée à l'estimation de la vraie dose réduisant de 20% l'activité cholinestérasique chez l'Homme sensible.		de Crump
State-of-the-Science Workshop Report: Issues and Approaches in Low-Dose–Response Extrapolation for Environmental Health Risk Assessment	White	2009	Compte rendu de l'atelier de l'US EPA et revue des discussions tenues sur la modélisation de l'extrapolation aux faibles doses et son application dans les évaluations des risques liés à l'environnement. Incorporation de l'incertitude et de la variabilité: voir annexe 2	Pratiquement tous les participants sont d'accord pour utiliser l'approche d'extrapolation linéaire à faibles doses par défaut, en l'absence de modèles dose-réponse basés sur le MOA.	Développement de modèles dose-réponse basés sur le MOA Pour développer des catégories de MOA: examiner la réversibilité de l'action chimique sur le système biologique à faibles doses. Si réversible: mesure du taux de réparation. Si irréversible: évaluation du nombre de dommages non réparés suffisants pour produire un danger clinique détectable.
Issues in Using Human Variability Distributions to Estimate Low-Dose Risk	Crump	2010	Les auteurs reviennent sur la volonté du NRC d'utiliser des distributions de variabilité humaine dans certaines situations pour estimer la relation dose réponse aux faibles doses. Ils évaluent donc les hypothèses et les données utilisées pour la réalisation de ces modèles de distribution.	Les auteurs estiment que la volonté du NRC de réduire l'incertitude en utilisant des distributions de la variabilité interhumaine n'est pas encourageante, pour plusieurs raisons. La 1ère: les modèles utilisés pour ces distributions sont peu fiables à cause de leur incertitude et il n'y a pas de justification scientifique pour supposer que la distribution de la variabilité humaine est lognormale. La 2ème: l'utilisation d'une distribution lognormale pour la réponse adverse est incompatible avec l'utilisation d'une lognormalité pour la distribution des	La modélisation de la distribution de la variabilité humaine doit être faite avec précaution, et selon eux il y a moins d'incertitude avec les méthodes d'extrapolation linéaire utilisées dans les modèles 1 et 3. L'estimation quantitative des risques basée sur le concept de seuil dans la population n'est pas très séduisante pour deux raisons. Premièrement, même dans les cas où il existe des seuils à l'échelle individuelle, il est peu probable qu'il existe des seuils dans la population. Deuxièmement, même si l'existe un seuil à l'échelle de la

				seuils de dose. La 3ème: l'hypothèse dans la modélisation de la HVD que le risque soit exprimé comme une fonction de produits de variables indépendantes manque de réalisme, et apparaît invalide.	population, il ne sera généralement pas possible d'établir des limites pour ces valeurs sans faire des hypothèses invérifiables.
Application of the National Research Council (2009) Science and Decisions "Silverbook" Methodology for Dose Response Assessment to 2,3,7,8 Tetrachlorodibenzo(p) Dioxin	Simon	2011	Détermination d'une VTR pour la dioxine sous forme de distributions en considérant les effets cancérogènes et de chloracnée et en utilisant comme biomarqueur d'effet le niveau d'activation du récepteur AHR. Même méthode que le NRC => détails à venir/envoi d'un mail	Une VTR égale à 100 pg/kg-d est recommandée et serait protectrice pour tous les types d'effet.	utilisation de la méthode du NRC Limites: recquiert beaucoup de données et une expertise dans les méthodes statistiques Autres.. À évaluer
An Approach for Modeling Noncancer Dose Responses with an Emphasis on Uncertainty	Price	1997	Le papier présente une approche permettant de caractériser la probabilité d'effets néfastes survenant dans une population exposée à des doses excédants la VTR. L'application de cette approche se fait en deux temps : - Utilisation de deux substances hypothétiques, comparaison des médianes et 95th percentile des deux cas. - Utilisation de 4 substances retrouvées dans l'environnement : alachlor, paraquat,	Dans les deux cas, les substances présentent la même VTR mais leurs relations dose-réponse sont différentes.	Le seuil d'effets néfastes dans une population est estimé en utilisant un modèle d'équation Monte Carlo. La distribution obtenue des valeurs de ce seuil reflète l'incertitude dans l'estimation associée à l'extrapolation à partir des données de test. Le taux d'incertitude que l'on retrouve dans les valeurs des facteurs d'incertitude UF _a et UF _h est mesuré par la différence entre le 95th percentile et la médiane de la courbe de la relation dose réponse.

			pentachlorophenol, et hexachlorobenzene.		
Reproductive and Developmental Risks from Ethylene Oxide: A Probabilistic Characterization of Possible Regulatory Thresholds	Evans	2001	Les auteurs développent une nouvelle approche pour caractériser les effets non cancérogènes de l'éthylène oxyde, qui : 1) utilise des relations dose réponse pour caractériser de façon probabiliste des doses correspondant aux niveaux de risque connus chez les animaux : estimation de ED10 ou ED50 2) caractérise de manière quantitative l'incertitude de l'extrapolation animal-Homme: estimation de AFah 3) prend en compte l'hétérogénéité dans la population humain: estimation de AFhh et finalement ED001	Les valeurs de LED001h varient entre 50 et 120 ppb La réduction de 5% du poids du fœtus apparaît être l'effet critique (correspond à LED la plus basse des autres effets de résorption et de mort foetale)	VTR pour femmes enceintes, nouvelle approche qui permet de caractériser l'incertitude à chaque étape du calcul et de spécifier le niveau du risque cible (ici 1/1000) mais données limitées (distributions empiriques) et présence d'incertitude quand à la distribution lognormale et le GSD.

Annexe 2 : Modèles conceptuels pour la dioxine (Simon et al., 2008)

Modèle 1

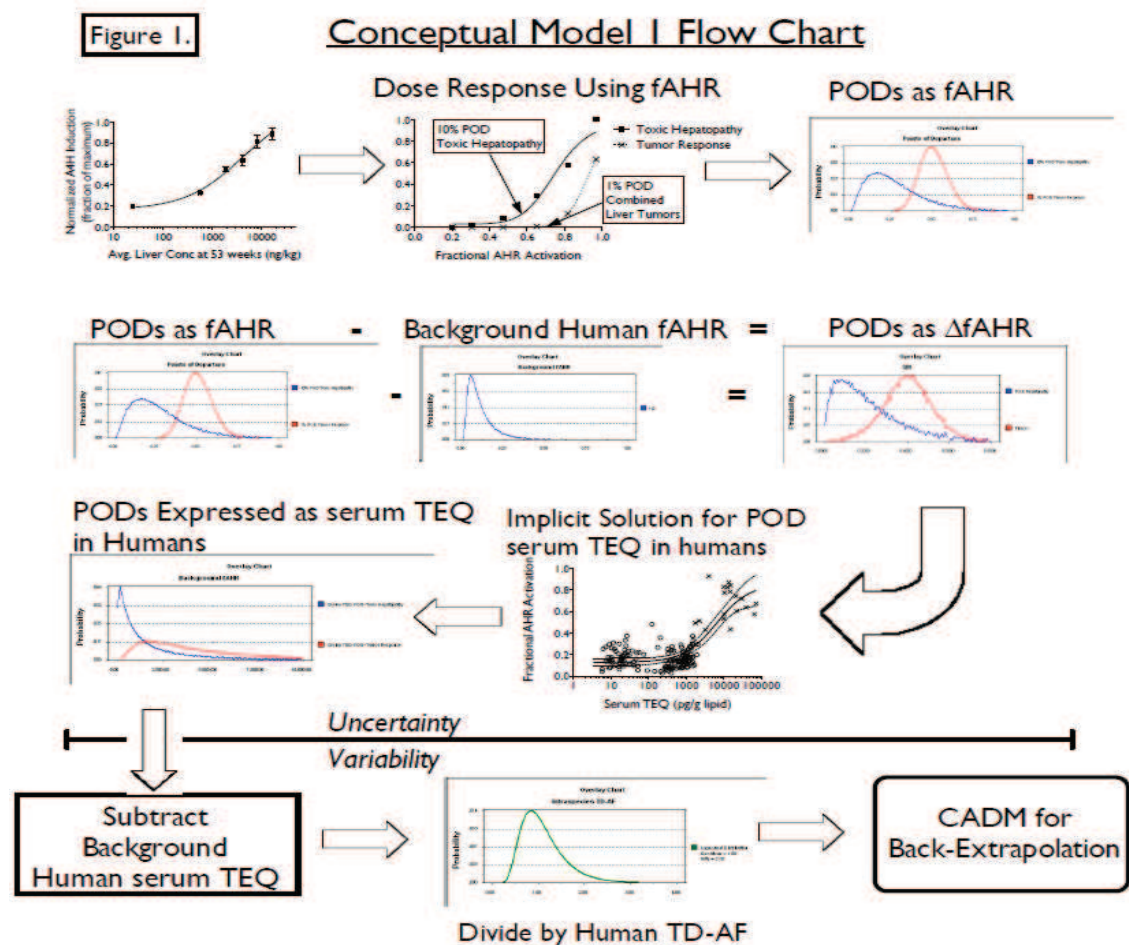
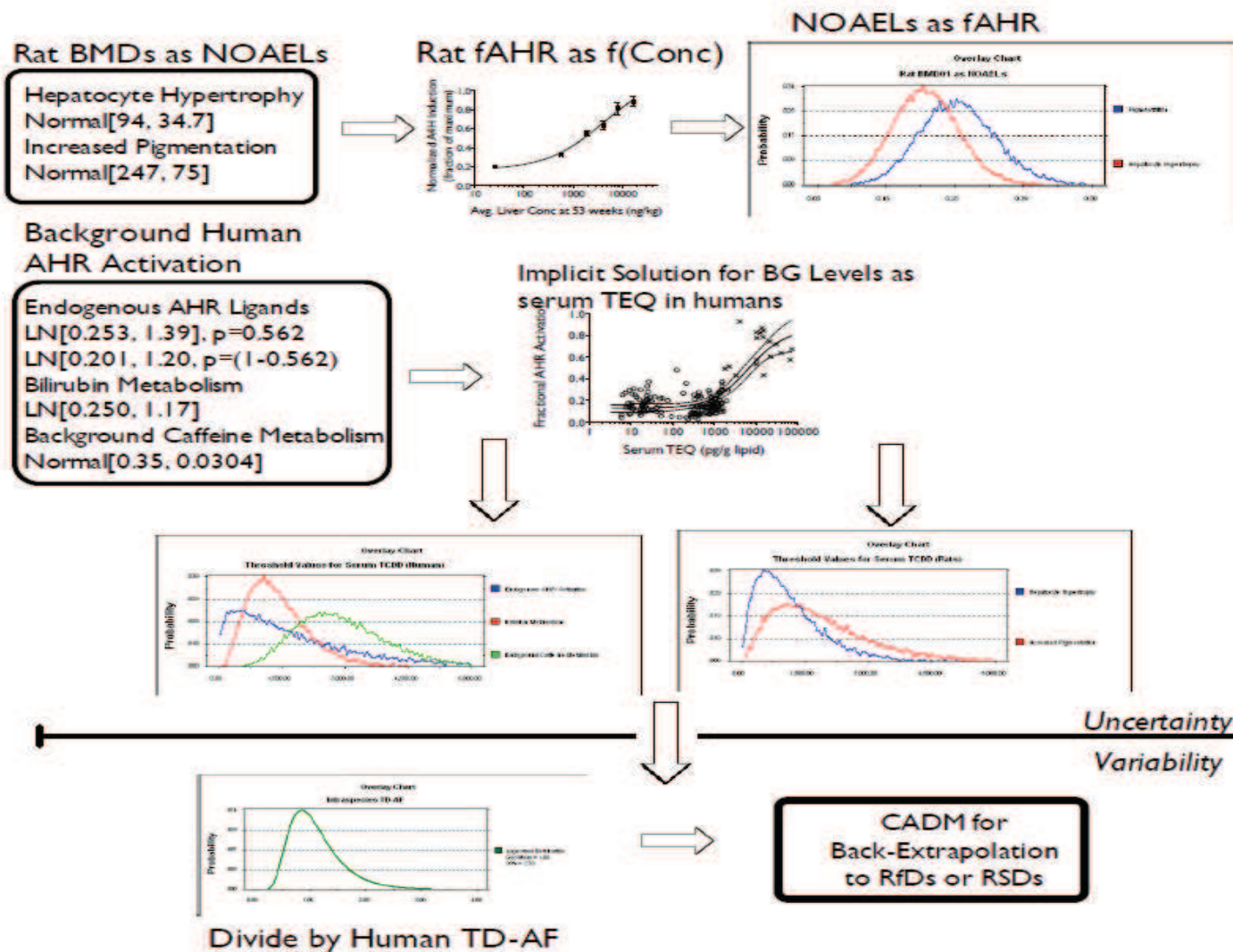


Figure 2.

Conceptual Model 2 Flow Chart

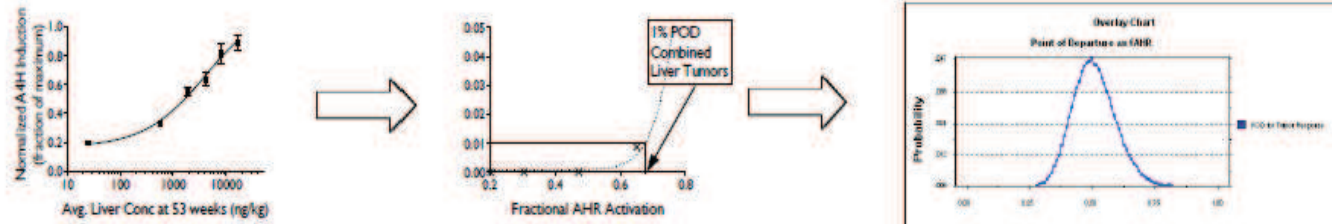


Modèle 2

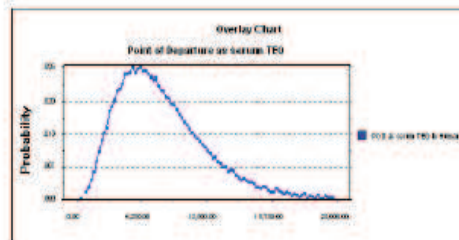
Figure 3.

Conceptual Model 3 Flow Chart

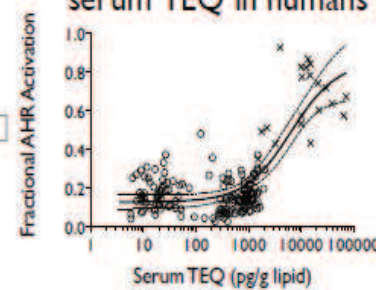
POD as fAHR



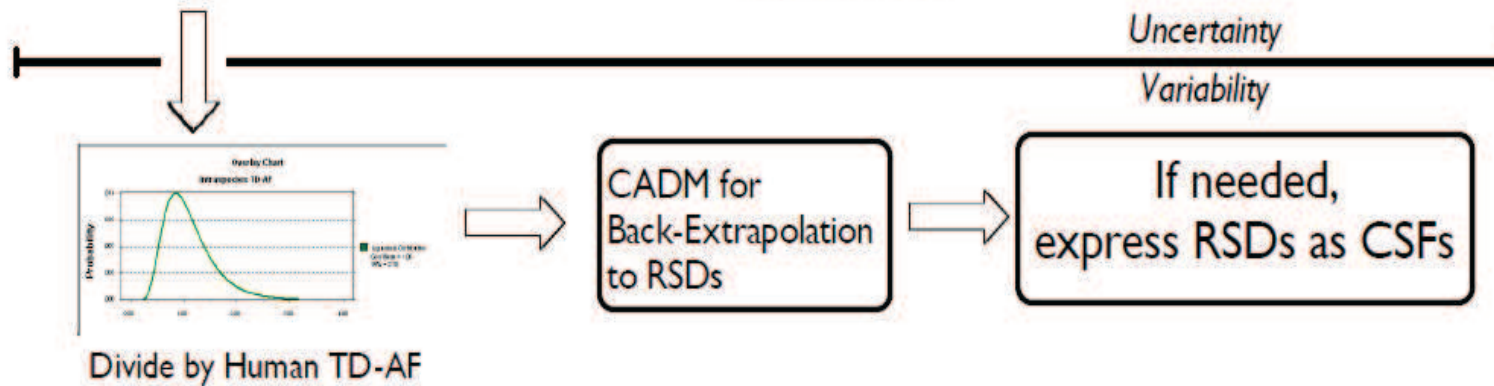
PODs Expressed as serum TEQ in Humans



Implicit Solution for POD as serum TEQ in humans



Modèle 3



Annexe 3 : Liste des intervenants

- M. Alain Claude ROUDOT, Enseignant chercheur en statistique et analyse de risque (Université de Bretagne occidentale)
- M. Benoit VERGRIETTE, Chef d'Unité Risques et société à la Direction de l'information, de la communication et du dialogue avec la Société (Anses)
- Mme Bette MEEK, Toxicologue évaluateur de risques sanitaires (Université d'Ottawa, Canada)
- M. Ted SIMON, Docteur et Consultant scientifique (LLC, Winston, USA)
- M. Vincent NEDELLEC, Consultant en Santé Environnement (VNC, Villennes sur Seine)

SERMENT DE GALIEN

En présence de mes maîtres et de mes condisciples, **je jure** :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si je manque à mes engagements.

Le National Research Council a publié fin 2008 un certain nombre de pistes de réflexions et de recommandations visant à améliorer les pratiques en évaluation des risques sanitaires, incluant l'harmonisation des approches à seuil et sans seuil dans l'étude des relations dose-réponse. La thèse a pour but d'explorer ce projet d'harmonisation en évaluant notamment sa mise en place dans les futures évaluations des risques sanitaires. Une analyse critique du chapitre 5 du NRC a été menée, suivie d'une revue de la littérature sur ce sujet. Enfin, de manière à mettre en perspective l'analyse, une étude de faisabilité a été réalisée à travers différentes études de cas incluant le sulfure d'hydrogène, le benzène, et le para-chloronitrobenzène. L'harmonisation se réfère à une approche d'évaluation plus cohérente d'un point de vue biologique. Elle permettrait non seulement d'établir un unique plan d'aide à la transposition chez l'Homme pour tous types d'effets, mais aussi de pouvoir quantifier le risque quelle que soit la dose d'exposition. Cette nouvelle démarche apparaît utile et semble applicable par les évaluateurs de risque dans les cas où un simple quotient de danger ne suffit plus. D'autres substances devront à nouveau être évaluées en considérant cette fois-ci les distributions des facteurs d'incertitude, de la variabilité et de la susceptibilité individuelle.

Mots clés

VTR, relation dose-réponse, approche harmonisée, NRC, seuil, para-chloronitrobenzène, sulfure d'hydrogène, benzène