



RÉPUBLIQUE
FRANÇAISE

*Liberté
Égalité
Fraternité*



anses

L'ÉVALUATION DES RISQUES LIÉS À DES MÉLANGES DE SUBSTANCES CHIMIQUES

Amélie Crépet

1. Qu'est-ce qu'un mélange ?

- Groupe de substances auxquels des individus sont co-exposés de manière aiguë ou chronique
- Les mélanges évoluent avec le temps

Questions liés aux mélanges

1

Quelles sont les effets
des mélanges ?

2

Comment définir les
mélanges à étudier ?

3

Comment évaluer les
risques des mélanges
?

4

5

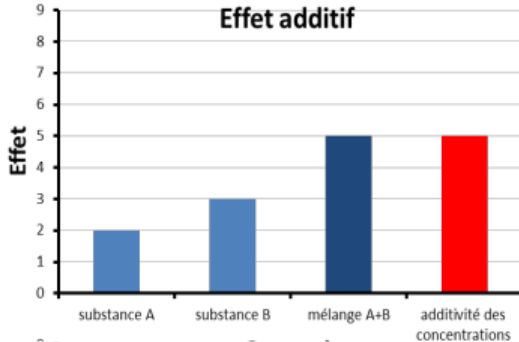
Pour aller plus loin



1. Quelle sont les effets des mélanges ?

Type d'effets des mélanges

Thèse de B. Kopp (2018)



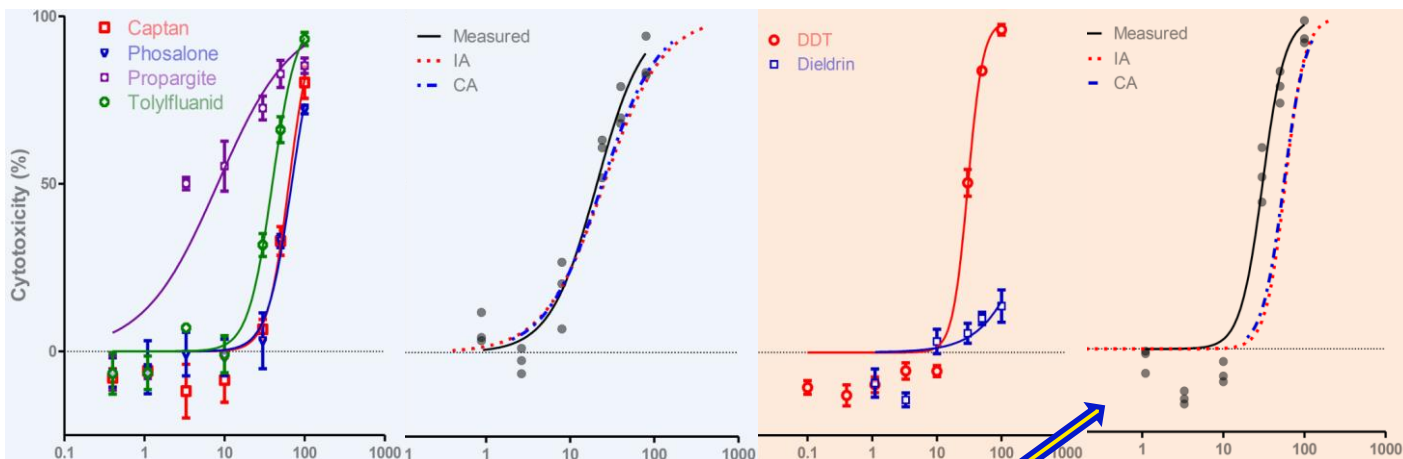
Effets additifs : pas d'interaction, addition des concentrations (CA) ou des effets (IA)

Interactions :

- Effets supra-additifs : synergie et potentialisation
- Effets sub-additifs : antagonisme et inhibition

Additivité ou interaction ?

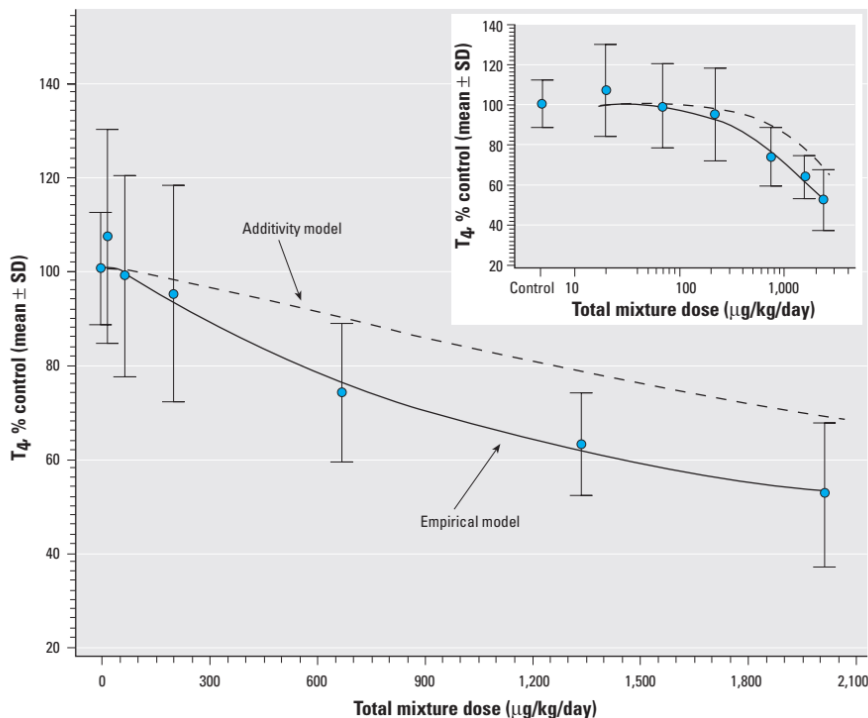
Cytotoxicité de deux mélanges de pesticides sur des cellules du colon
(ANSES Fougères, Lehegarat et al. Poster Eurotox 2011)



Certains mélanges ne valident pas les H d'additivité des doses (DA) ou des effets (IA). Leurs composés peuvent interagir et l'effet du mélange peut être plus petit (antagoniste) ou plus grand (synergique) que celui de la somme des effets ou des doses

Dose dépendance

Crofton et al. 2005



Diminution en T4 observée (empirical model) et prédite par le modèle additif de l'exposition de rats femelles à un mélanges de 18 substances (2 dioxins, 4 dibenzofurans, and 12 PCBs, including dioxin-like and non-dioxin-like PCBs).

L'additivité est observée à des doses faibles tandis qu'à des doses plus élevées, l'effet observée est plus qu'additif.

Consensus sur l'additivité

Additivité des concentrations très souvent observée et conservatrice p
rapport à l'additivité des effets (action indépendante)

- En l'absence de preuves scientifiques sur de possibles interactions, l'additivité des concentrations peut être utilisée par défaut pour l'ERS lorsque
- les modes d'actions sont similaires
- ou
- les doses d'expositions sont faibles.

2. Comment définir les mélanges à étudier ?

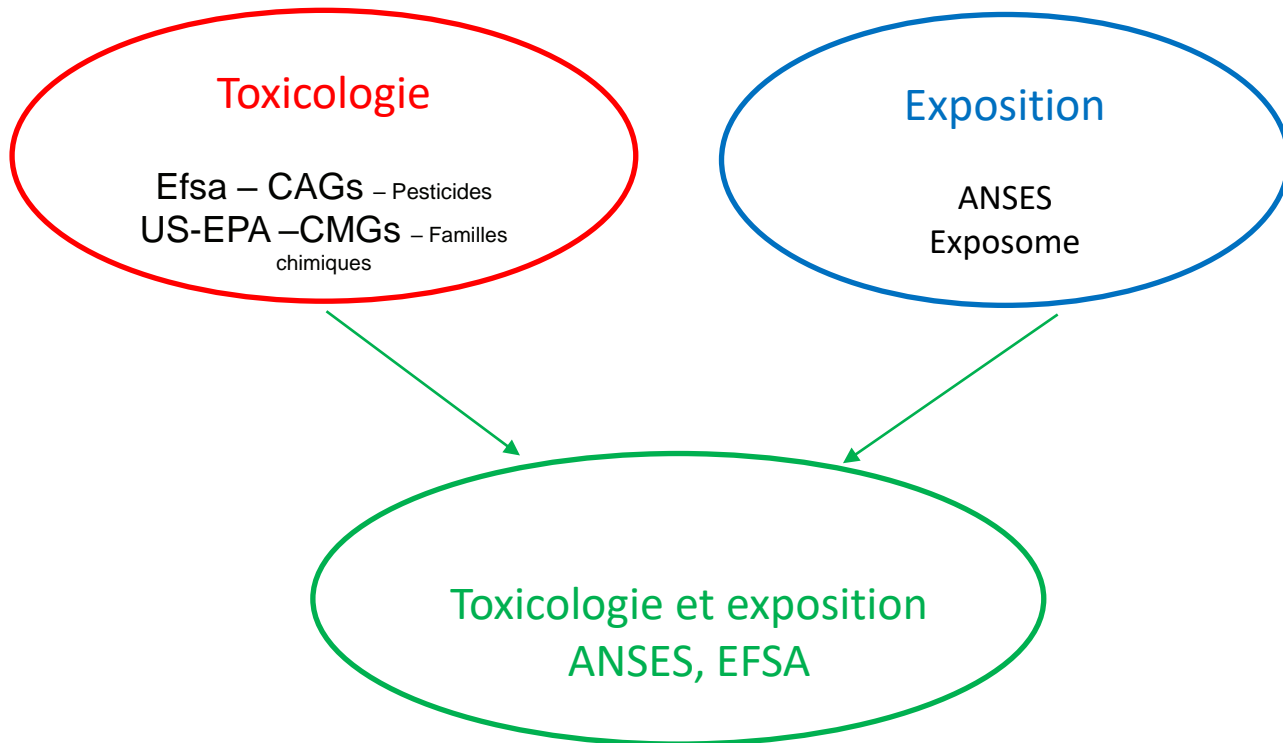
Etude de l'alimentation totale 2, Anses, 2011



- ~ 200 Pesticides
- ~ 30 Contaminants inorganiques et minéraux
- ~ 10 Additifs ~ 10 Phyto-oestrogènes
- ~ 20 Mycotoxines
- ~ 50 Dioxines, PCB, furanes, retardateurs de flammes bromés

Pesticides: $2^{200} = 1.6 \times 10^{60}$ combinaisons !!!

Approches existantes



CAG: Cumulative assessment group
CMG: Common mechanism of action

A partir des données toxicologiques

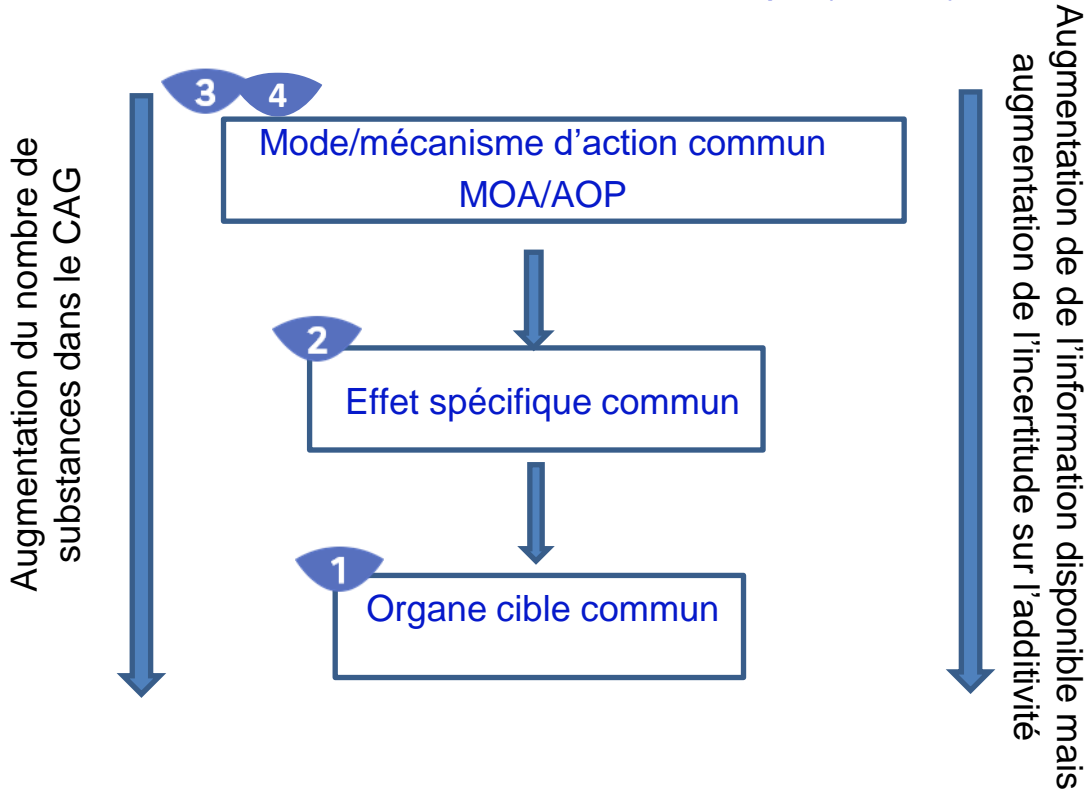
EFSA. 2019. Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. EFSA Journal 17(13):5634.

EFSA. 2021. Guidance on scientific criteria for grouping chemicals into assessment groups for human risk assessment of combined exposure to multiple chemicals

Regroupement des substances

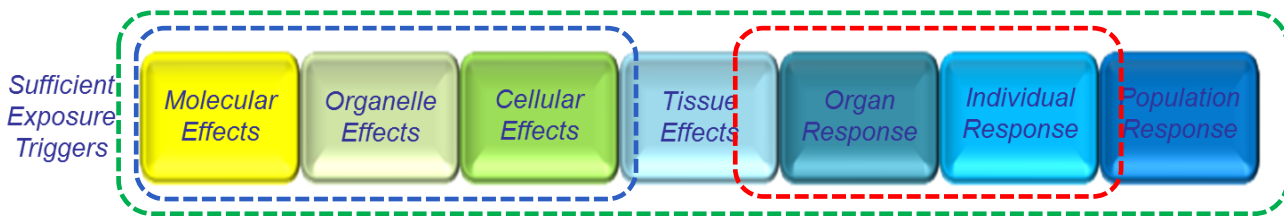
EFSA, Niveaux 1-4 *Cumulative assessment groups* (CAGs)

US-EPA, Niveaux 3 et 4 *Common Mechanism Groups* (CMGs)



Adverse Outcome Pathways (AOPs)

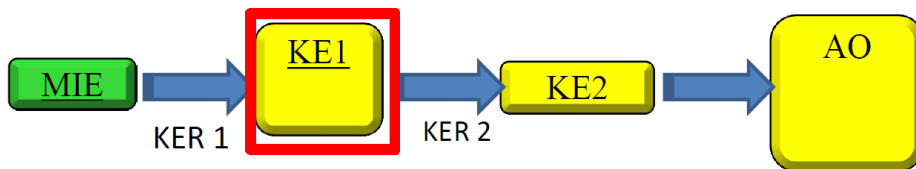
- Séries d'événements qui vont mener à un effet sur la santé (Adverse Outcome)
- Permet d'organiser le savoir autour d'un effet sur la santé
- Est construit pour un effet donné (et non par substance)



Common Molecular Initiating Event (MIE) and early key events

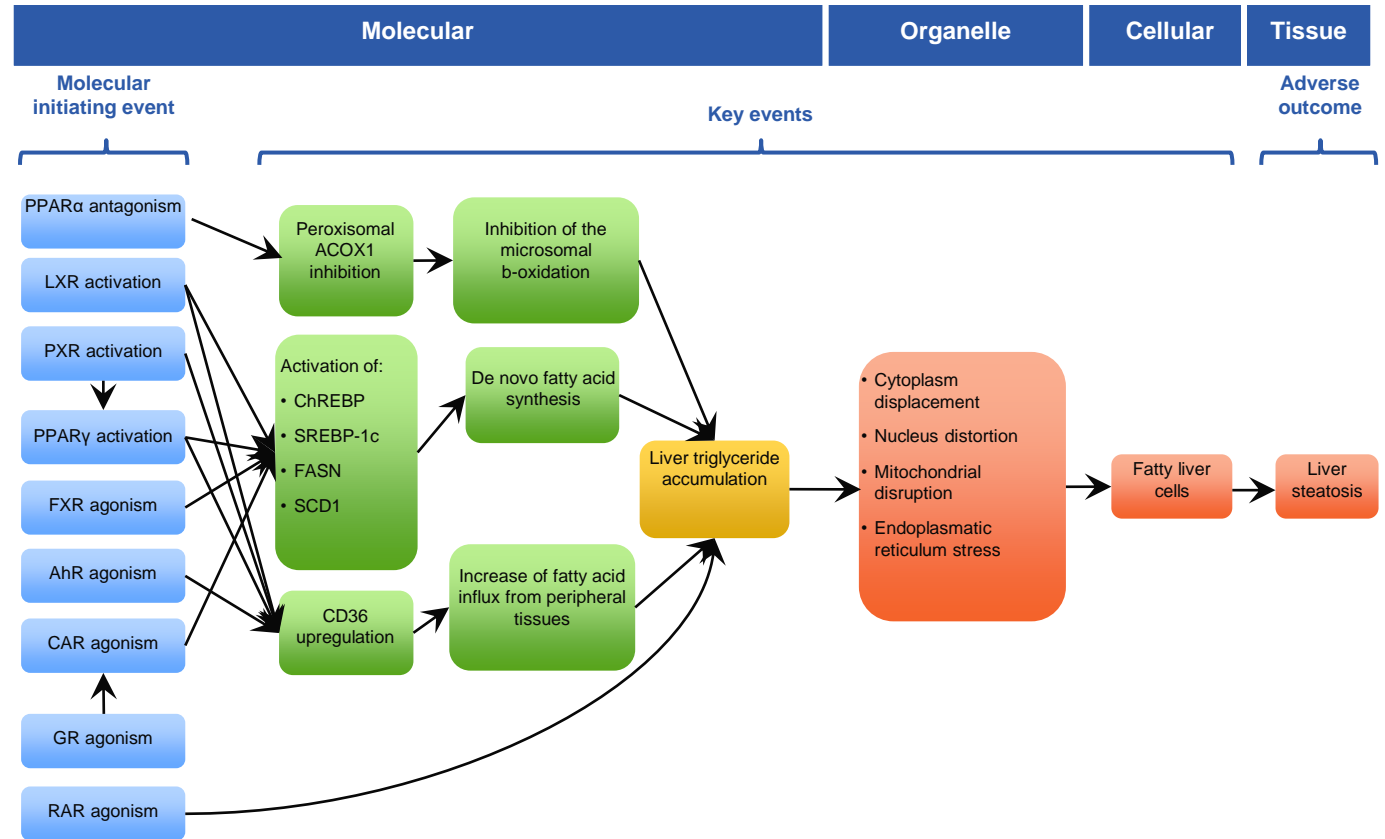
Common target organs / phenomenological effects

Use all available information on common events from all levels



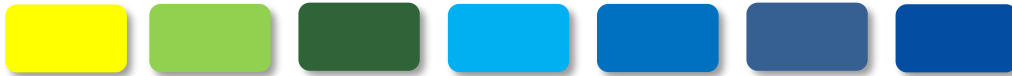
KE : key events
 KER : key events relationship

Réseaux d'AOPs pour l'effet de stéatose



Le réseau d'AOPs pour sélectionner les mélanges

AOP
network



	MIE 1	MIE2	...	KE1	KE2	KE3	AO
Chemical C1	✓			✓			✓
Chemical C2		✓				✓	✓
Chemical C3		✓				✓	✓
Chemical C4		✓		✓			✓

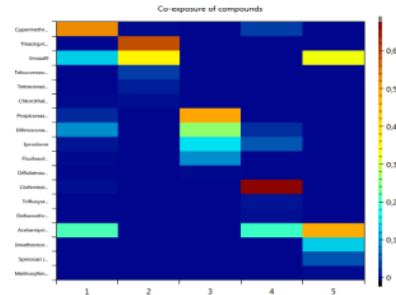
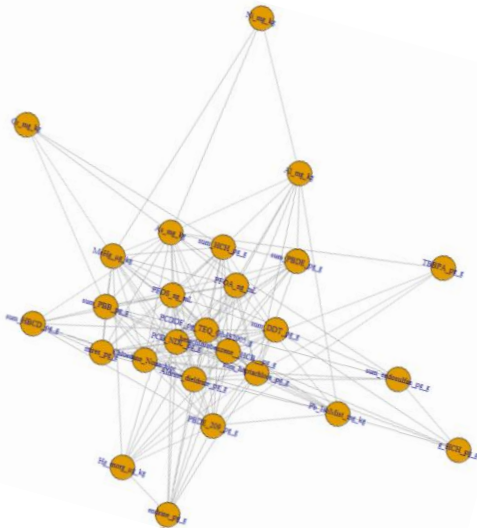
Une substances est incluse dans un mélange si

- Même effet (C1, C2 et C3)
- Même AOP (C2 et C3)
- MIE différents mais un KE commun (C4, C1)

A partir des co-expositions

Anses, Exposome

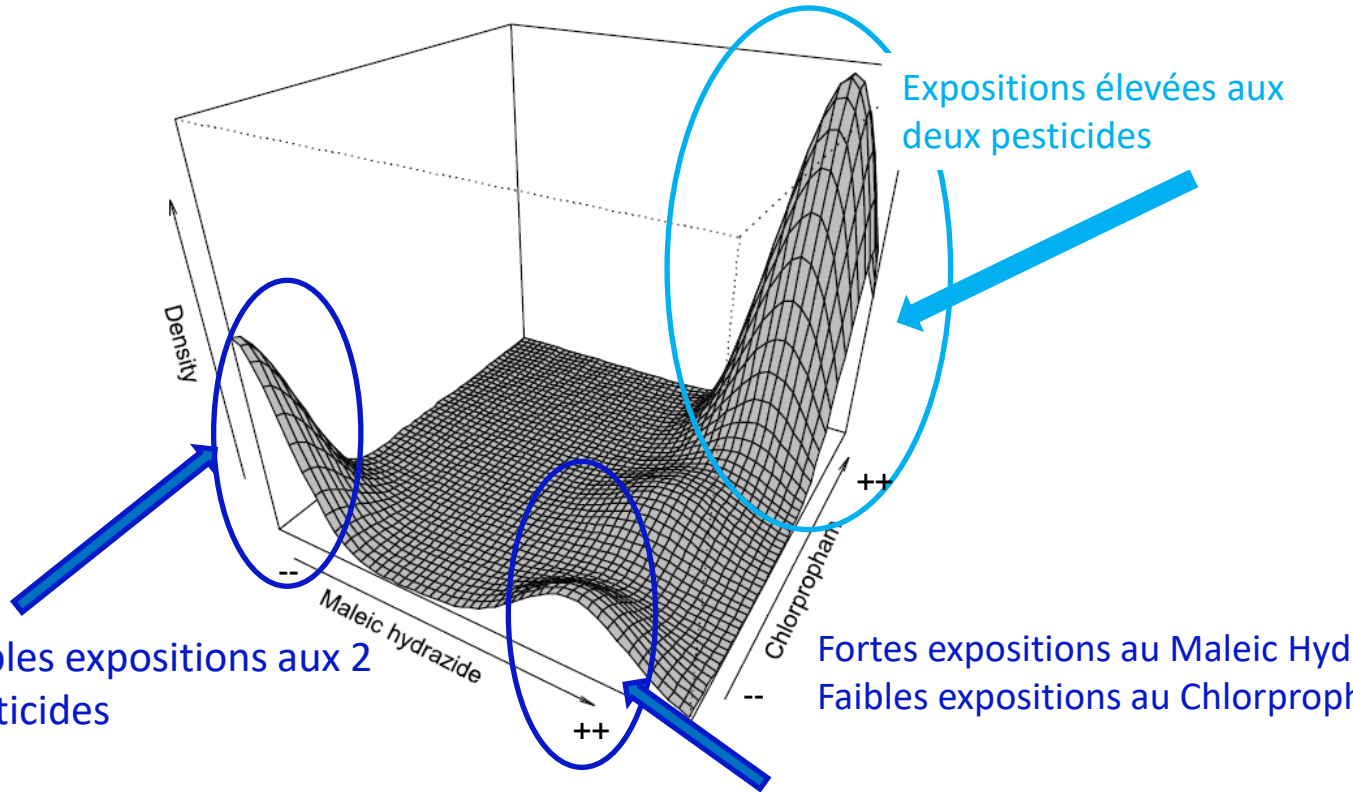
Analyse des corrélations par réseaux



Factorisation en matrices non-négatives et classification



Expositions à deux pesticides

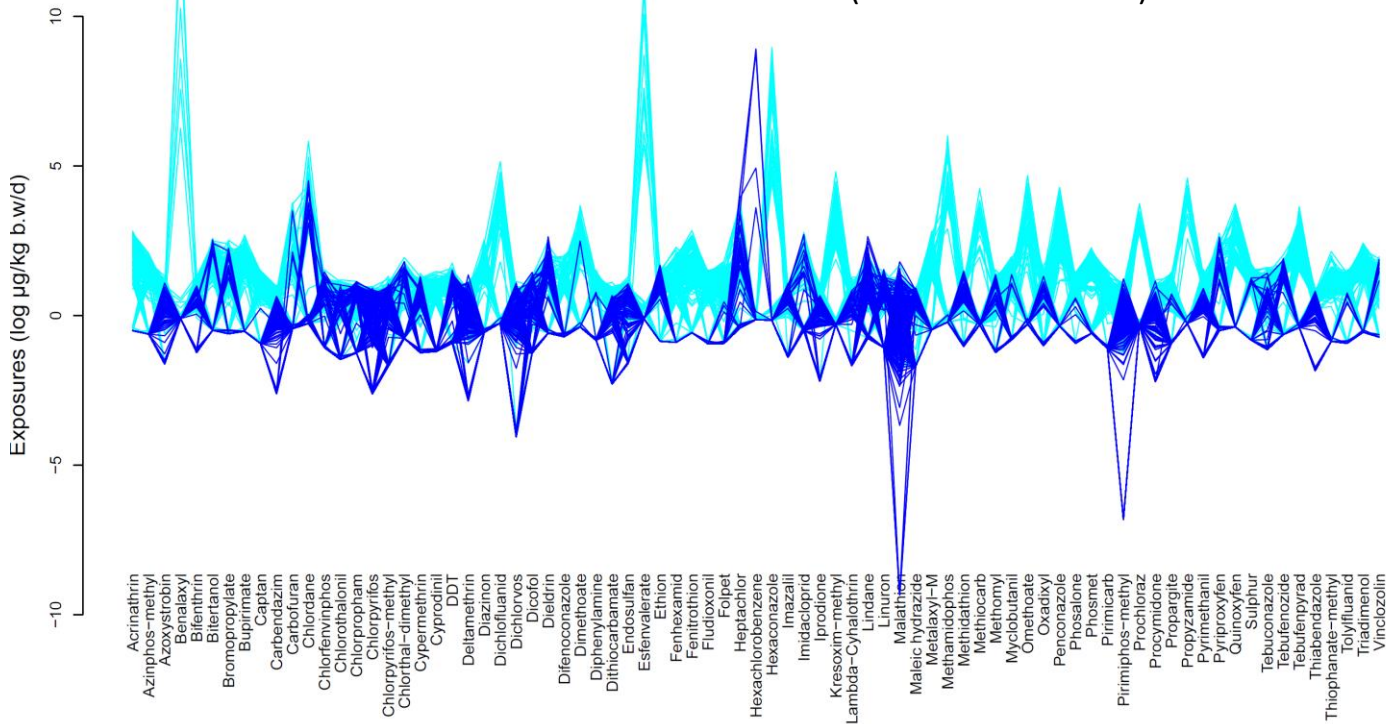


➔ En réalité : Exposition à une multitude de substances
Travailler en grande dimension

Classification de profils de co-expositions

Crépet A. et al. (2011). *Bayesian nonparametric model for clustering individual co exposure to pesticide in the French diet. (Bayesian Analysis 6(1), 127:144)*

Exposition aiguë à 79 pesticides
(Périclès 2009-2012)



Expositions chroniques à 153 substances

7 groupes d'individus combinant entre 1 et 2 des 7 systèmes de consommation (CS) et exposés majoritairement à 1 ou 2 mélanges parmi les 7 principaux

Group	% of CS	Major Consumption Systems	Mixtures
Group 2 N=523 Age=32* BMI=25.2* %Men=55%	36%	Soda, Pizza, Sandwich, Hamburger, Chocolate spread, Sauteed potatoes or chips Salted potato crisp, etc.	PHE, FA (PAHs), Zer (Mycotoxins), Pirimiphos-methyl, Piperonyl Butoxide PBDEs Co, Acrylamid, Ni, etc.
	22%	Baguette, Beef steak, Pasta, Butter, Camembert, Sugar, Eggs, etc.	HT2, Don, Niv, Zer (Mycotoxins), BPA, PY, PHE (PAHs) Cd, Co, Te, Pb , etc.
Group 3 N=164 Age=51* BMI=24.6* %Women=62*	49%	Peach, Melon, Abricot, Tomato, Cucumber, Vinaigrette, Bean, Radish, Strawberry, etc.	Λ -Cyhalothrin, Chlorpyrifos-ethyl, Acrinathrin, Procymidone, Phosmet, Chlorothalonil, Cyprodinil, etc.

*significativement différent de la population générale

Données tox et co-expositions

Approche ANSES/EUROMIX

1- Sélection des substances avec organ/effet similaire
(EFSA-CAGs, QSAR...)

- ✓ Ex: 144 pesticides with NOAELs for steatose

$$RPFs = NOAEL_{ref} / NOAELs$$

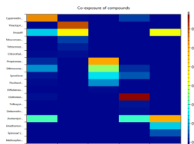
2- Exposition combinée

- ✓ Ex: 40-70 avec valeurs quantifiées pour 9 pays

$$E_{s,i}$$

Méthodes statistiques

- ✓ Réduction de la dimension (ex SNMU)
- ✓ Classification/Clustering



$$E_{s,i} \times RPF_s$$

3- Extraction des principaux mélanges

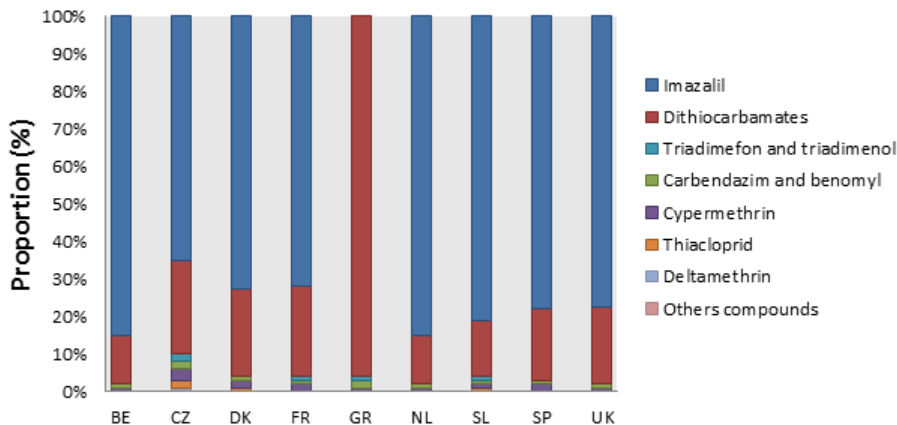
Critères de sélection

- ✓ Expositions et corrélations élevées
- ✓ Effet commun + Toxicité élevée

Mélanges déterminés à partir des co-expositions et du danger

Priorisation à partir de 60 pesticides quantifiés et communs avec les données de stéatose

Composition du principal mélange par pays



Crépet et al. 2019 Mixtures of chemicals that European populations are exposed to: selection from dietary exposure and hazard data, International Journal of Hygiene and Environmental Health

3. Comment évaluer les risques des mélanges ?

Approches utilisées

1- Approche « *whole mixture* »: le mélange est traité dans son ensemble comme une substance

- Nécessite des données toxicologiques pour le mélange
- Non extrapolable (doses et composition)
- Prend en compte les interactions
- Utilisée pour des mélanges ciblés comme site pollué, accidents

2- Approche « *component based* » (composé par composé)

- Utilisation des données disponibles pour chaque substance
- Hypothèse d'additivité des doses
- Extrapolable (doses et composition)
- La plus utilisée

Hazard index

Somme des quotients de danger (Hazard Quotients):

$$HQ_s = \frac{E_s}{VTR}$$

$$HI = \sum_{s=1}^S HQ_s = \sum_{s=1}^S \frac{E_s}{VTR}$$

Si $HI > 1 \rightarrow$ *Risque*

- VTR (HBGV): ADI, TDI, ARfD
- Rapide, données accessibles mais incertitude élevée
- Conservateur dans la majorité des cas
- Ex: PPPs contenant plusieurs substances actives

Limites : combinaison d'effets différents \rightarrow peu de réalité biologique

Reference point index (RPI)

Approche « **component based** »: hypothèse d'additivité des doses et des effets

Même effet spécifique ou MOA

$$ToxRef = NOAEL, BMDL$$

Reference Point Index (RPI) :

$$RPI = \sum_{s=1}^S \frac{E_s}{ToxRef_s}$$

Risque écarté si $RPI \times UF < 1 \rightarrow UF$ unique

2- modified Reference Point Index (mRPI) : \neq Ufs spécifiques

$$mRPI = \sum_{s=1}^S \frac{E_s \times UF_s}{ToxRef_s}$$

Risque écarté si $mRPI < 1$

Facteurs de toxicité relative

Approche « **component based** »: hypothèse d'additivité des doses et des effets

Même effet spécifique ou MOA

$$ToxRef = NOAEL, BMDL$$

➤ Conversion de chaque substance s en la toxicité d'une substance de référence i

$$RPF_s = \frac{ToxRef_i}{ToxRef_s}$$

➤ Somme des expositions converties: $CumE = \sum_{s=1}^S E_s \times RPF_s$

➤ Comparaison avec la valeur $ToxRef$ de la substance de référence en calculant des marges d'exposition

$$MOE = \frac{ToxRef_i}{CumE}$$

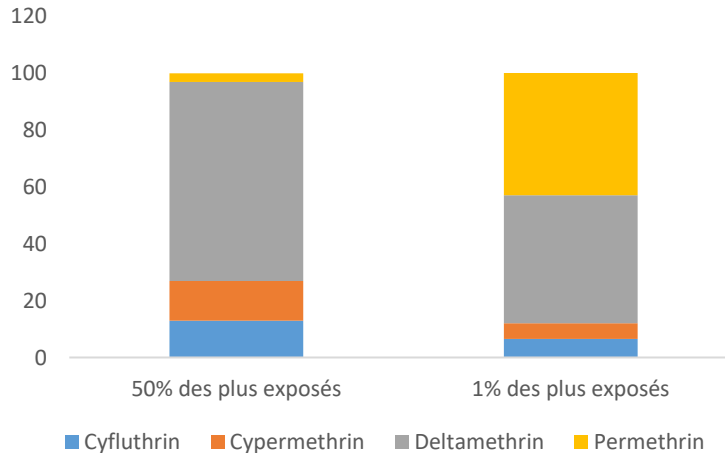
Risque écarté si $MOET > AMOE$

$AMOE$: acceptable margin of exposure = **UFunique**

Hypothèses : courbes parallèles, protocoles homogènes, UF unique

Application à un mélange de pyréthrinoides

- Quatre pyréthrinoides
- Mutli sources et voies : alimentation, air intérieur/extérieur, poussière, médicaments vétérinaires, médicaments
- Effet neurotoxique : fonction motrice
- NOAEL établis par l'EFSA (CAG)
- Calcul du risque par MOE (facteur de toxicité relative)
- Risque <100 (UF)



Démarche d'évaluation des mélanges

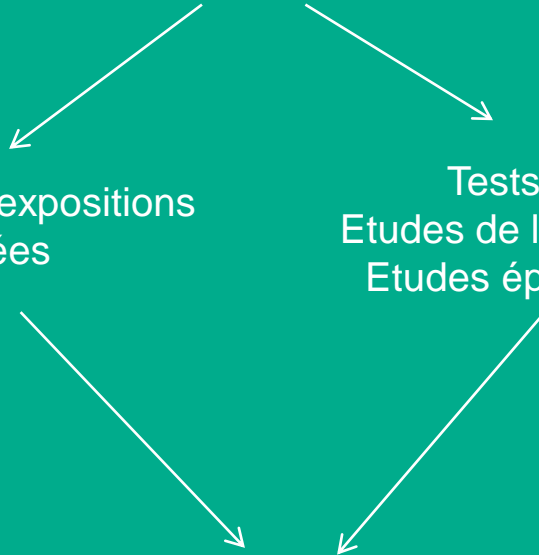
Définition des mélanges

- Toxicologie
- Exposition
- Exposition + toxicologie (risque)

Evaluation des expositions
cumulées

Tests de toxicité
Etudes de la toxicocinétique
Etudes épidémiologiques

Evaluation du risque



4. La prise en compte des sources multiples d'exposition et des mélanges: un autre challenge pour l'évaluation des risques

Exposition agrégée

Evaluation de l'exposition à **une substance** via **plusieurs sources** de contamination et potentiellement différentes **voies**

Orale

Alimentation
Boisson
Poussière
Sol



Inhalée

Air intérieur
Air extérieur
Particules
Poussière



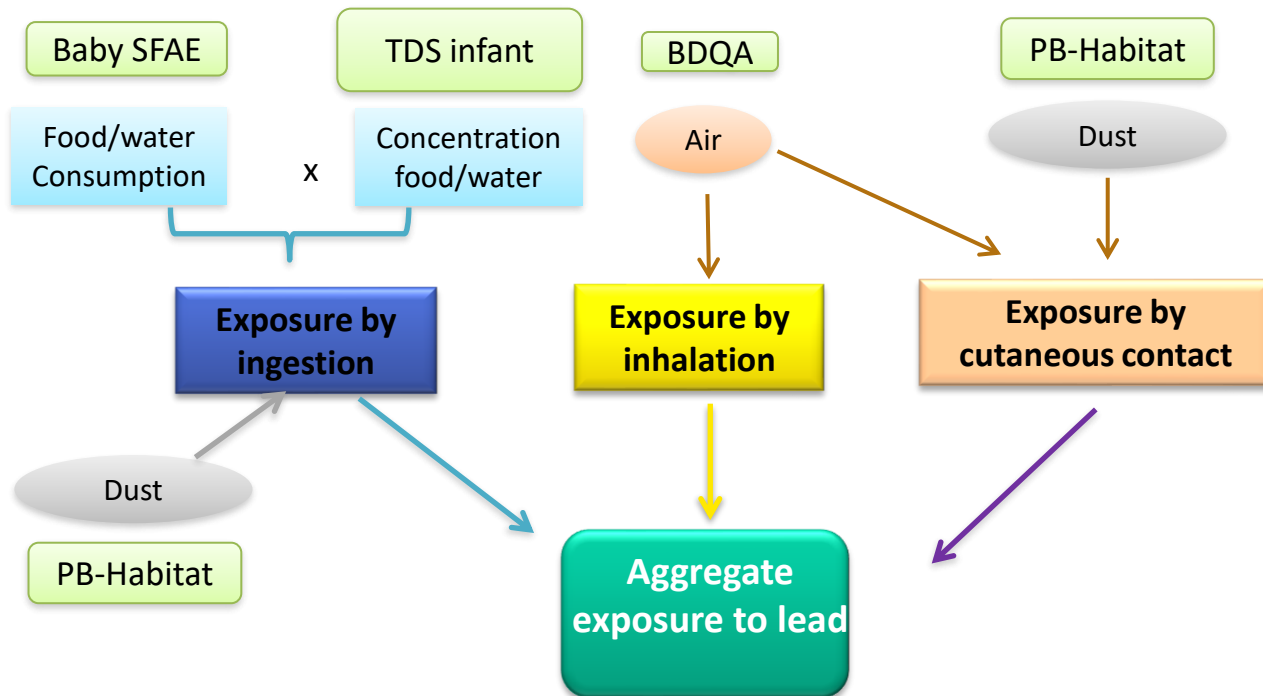
Cutanée

Médicaments vétérinaires
Produits cosmétiques
Poussière
Air



Exposition agrégée

Reconstruction de l'exposition agrégée aux plomb des enfants de 3 à 6 ans



5. Vers une approche exposome



Composantes de l'exposome



Dangers multiples

Agents chimiques, biologiques, physiques, stress psychosocial/mental



Sources multiples

Alimentation, air, eau, produits de consommation, cosmétiques, jouets, air de jeux, écrans, soleil, animaux



Déterminants sociaux

Contexte social, éducation, revenu, chômage, environnement urbain/rural



Activités / Mode de vie/Traumatismes

Ecole, travail, environnement extérieur / intérieur, tabac, alcool, activité physique, accidents



Expositions tout au long de la vie

Facteurs endogènes



Epigénétique, métabolisme, hormones, morphologie, microbiote intestinal, inflammation, stress oxydant



Effets sur la santé

Maladies cardiovasculaires, respiratoires, mentales, neurodégénératives, cancers, diabète, allergies, déficience immunitaires, perturbations endocriniennes, + accidents

Conclusions et perspectives

- Enjeu scientifique, sociétal et de gestion du risque
- Des outils et données existent et permettent de produire des ERS
- Nécessité de continuer les efforts en termes de développement de méthodologies, outils, collecte et production de données
 - En particulier, nécessiter de grouper les substances par MOA/AOP et de créer des bases de données avec les valeurs tox associées
 - Vérifier expérimentalement (tox et épidémio) les modèles théoriques
- Poursuite des collaborations européennes et internationales
 - Futur projet PARC
 - Harmonisation au niveau réglementaire en cours (ex PPP)
 - Roadmap EFSA sur l'ERS des mélanges