



HAL
open science

Les mélanges de contaminants : est-on capable d'en évaluer les risques ?

Jean Pierre J. P. Cravedi, Marc Audebert, Laurent Debrauwer, Emilien L. Jamin, Laurence Gamet-Payrastre, Roger Rahmani, Marie-Chantal Canivenc-Lavier

► To cite this version:

Jean Pierre J. P. Cravedi, Marc Audebert, Laurent Debrauwer, Emilien L. Jamin, Laurence Gamet-Payrastre, et al. Les mélanges de contaminants : est-on capable d'en évaluer les risques ?. *Innovations Agronomiques*, 2012, 24, pp.49-56. hal-02645935

HAL Id: hal-02645935

<https://hal.inrae.fr/hal-02645935>

Submitted on 29 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Les mélanges de contaminants : est-on capable d'en évaluer les risques ?

J.P.Cravedi¹, M. Audebert¹, L. Debrauwer¹, E. Jamin¹, L. Payrastré¹, R. Rahmani¹, M.C. Canivenc²

¹INRA, UMR1331 Toxalim, Toulouse

²INRA, UMR1324 CSGA, Dijon

Correspondance : jcravedi@toulouse.inra.fr

Résumé

L'exposition des consommateurs aux contaminants est souvent le fait de mélanges complexes d'agents chimiques. L'évaluation des risques cumulés pour l'Homme provenant d'expositions simultanées ou séquentielles à des agents chimiques multiples d'origines diverses et pénétrant l'organisme par différentes voies est généralement mal prise en compte par les autorités compétentes. Réglementairement, l'estimation de la toxicité de ces mélanges (lorsque les agents chimiques sont connus et que les données toxicologiques sont disponibles) est essentiellement basée sur l'évaluation de l'innocuité de chaque composant pris individuellement ou sur des tests effectués sur le mélange global. Plusieurs équipes de l'INRA, majoritairement à Toulouse, testent actuellement des mélanges de composés chimiques sur des systèmes *in vitro* et *in vivo*. Elles ont développé des outils / approches originales destinées à caractériser des effets additifs, supra-additifs ou infra-additifs des substances chimiques en mélange, mais aussi à mieux connaître l'exposition humaine aux mélanges complexes.

Mots clés : mélanges, additivité, synergie, potentialisation, pesticides, hydrocarbures, exposition.

Abstract : Mixtures of contaminants : how to assess the risks ?

The contaminants to which the consumers are exposed are in fact complex mixtures of chemicals. Assessment of cumulative risks to humans resulting from simultaneous or sequential exposure to multiple chemicals from different sources via multiple routes is inadequately taking into account by competent authorities. Regulatory toxicity assessment of such mixtures (when the chemicals are known and the corresponding toxicity data are available) is mainly based on safety assessments of individual ingredients, or on whole mixture testing. Several INRA teams, mainly of them in Toulouse, are currently testing mixtures of chemicals on *in vitro* and *in vivo* systems. They have developed original tools / approaches for the characterization of additive, supra-additive or infra-additive effects chemicals in mixtures, but also for a better knowledge of human exposure to complex mixtures.

Keywords : mixtures, additive effect, synergy, potentialization, pesticides, hydrocarbons, exposure.

Introduction

Contrairement à la toxicologie conventionnelle pour laquelle la substance à risque est identifiée, les doses et modalités d'exposition souvent connues et les effets attendus, la toxicologie environnementale ou alimentaire est une toxicologie de faibles doses (inconnues) voire de traces, exerçant généralement sur de très longues durées des effets indésirables, faisant intervenir des mélanges interactifs de substances connues et inconnues dans des matrices complexes. En conséquence, la toxicologie alimentaire doit dégager ses priorités méthodologiques et conceptuelles qui ne sont pas forcément celles de la toxicologie conventionnelle.

La nature de toutes les substances exogènes auxquelles l'homme est exposé est loin d'être connue de manière exhaustive, puisqu'il s'agit non seulement de contaminants organiques ou minéraux d'origine anthropique, de substances introduites volontairement par l'homme dans la chaîne alimentaire ou encore de substances naturelles résultant de l'activité bactérienne, fongique ou algale, mais également des produits de dégradation de ces substances ou encore des produits susceptibles de se former durant la préparation des aliments. Le consommateur est soumis à une co-exposition permanente à ces mélanges de xénobiotiques qui peuvent interagir entre eux, mais aussi avec les constituants de la matrice alimentaire.

Traditionnellement, la toxicité des contaminants est étudiée individuellement, molécule par molécule en conformité aux exigences réglementaires (Commission Européenne, 2010). Cette approche analytique est indispensable pour connaître le profil toxicologique d'un élément isolé et déterminer les seuils de toxicité à partir des relations doses-réponses. En revanche cette approche ne permet pas d'apprécier les dangers et les risques de mélanges et notamment ceux de substances n'ayant aucune activité délétère propre mais qui peuvent révéler, et/ou potentialiser ou inhiber l'action néfaste d'autres xénobiotiques.

Le processus usuel d'évaluation du risque lié à l'exposition aux substances chimiques a pour objectif de fixer des seuils toxicologiques tels la dose journalière acceptable (DJA) généralement basés sur des données issues de l'expérimentation animale qui permettent de déterminer une dose sans effet adverse observé (NOAEL). Les expositions se situant au dessous de la DJA sont considérées comme sans risque pour la santé publique. La question posée par les mélanges est de savoir si ces valeurs seuils sont valables lorsque la population est exposée, comme dans la réalité, à des cocktails complexes de composés chimiques.

Il convient de distinguer plusieurs types de mélanges. Certains sont des mélanges complexes de molécules ayant des structures chimiques voisines, souvent mal caractérisés, comme par exemple les huiles minérales ou encore les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Ces mélanges sont souvent évalués en tant que tels, comme s'il s'agissait d'un composé unique.

D'autres comme les cosmétiques ou les produits phytosanitaires sont majoritairement commercialisés sous la forme d'un mélange (substance[s] active[s] + agents de formulation). Le processus actuel d'évaluation des produits phytopharmaceutiques par exemple est basé sur l'étude approfondie des substances actives et sur une étude plus limitée mais complémentaire des préparations (mélanges d'une ou plusieurs substances actives et de divers formulants). Il est certain que ce processus ne couvre pas totalement le domaine des mélanges de préparations autorisées entre elles ou avec des adjuvants.

Enfin, nous sommes, *via* notre environnement et par des voies multiples (inhalation, ingestion, contact avec la peau) soumis à plusieurs centaines d'agents chimiques d'origine diverse (pesticides, polluants, additifs alimentaires, produits de soin, etc...). C'est précisément cette multi-exposition, variable en fonction de l'environnement dans lequel on vit et constituée de nombreux agents dont on ignore en grande partie le danger, qui est la plus difficile à appréhender. Compte tenu du nombre presque infini de combinaisons possibles de produits chimiques auxquels l'homme peut être exposé, il est indispensable

d'une part de développer des critères de sélection pour définir les mélanges potentiellement préoccupants et d'autre part de développer des outils permettant la réalisation de tests à haut débit.

1. Estimation de l'effet des mélanges

1.1. Approche basée sur le mélange pris dans son ensemble

Cette approche implique que le mélange, dans sa totalité ait fait l'objet d'études toxicologiques et tient compte, de fait, des éventuelles interactions entre les constituants du mélange. Elle est utilisée lorsque la composition du mélange ne peut être déterminée (par exemple pour les huiles minérales). Si ce cas de figure semble simple, il n'en présente pas moins des limites principalement liées à la difficulté d'extrapoler les données sur la dangerosité d'un mélange à un autre et à l'impossibilité d'appliquer des modèles de toxicocinétique (PB/PK) aux mélanges dont on ne connaît pas la composition.

1.2. Approche basée sur les constituants du mélange

Pour les toxicologues, la capacité à prédire les effets d'un cocktail à partir de la connaissance des effets de chacun des constituants, considéré individuellement, demeure un enjeu majeur de la problématique. Parmi les cas de figures qui ont été envisagés, celui de l'additivité des effets a servi de base à plusieurs approches d'évaluation du risque. Elle caractérise une situation pour laquelle les mélanges produisent une réponse toxicologique égale à celle prédite par l'addition de la dose (lorsque chaque substance agit comme une simple concentration ou une dilution d'une autre substance, d'où l'hypothèse de similarité des mécanismes d'action) ou par l'additivité des réponses de chacune des composantes présentes dans le mélange (somme des probabilités d'évènements indépendants : on parle alors de l'indépendance des mécanismes d'action). L'analyse de la littérature indique que l'additivité de la dose constitue une bonne estimation de l'effet des mélanges lorsque ce dernier est étudié à partir de substances pures agissant sur une cible commune (Boobis *et al.*, 2011 ; Commission Européenne, 2010). Il existe plus rarement des effets supra-additifs observés lorsque la toxicité des mélanges est plus élevée que la somme des doses ou des réponses des composantes du mélange (Krishnan, 2008). Ces effets supra-additifs relèvent soit d'une potentialisation (au moins une composante du mélange n'a pas d'effet toxique, mais lorsqu'elle est ajoutée à une ou plusieurs substances toxiques, elle augmente la toxicité de ces dernières), soit d'une synergie (mélange dans lequel toutes les composantes sont actives) (INERIS, 2006). Des effets infra-additifs peuvent être observés lorsque la toxicité des mélanges est moins élevée que la somme des doses ou des réponses des composantes du mélange. Si les facteurs susceptibles d'entraîner un effet inférieur ou supérieur à l'additivité sont relativement bien identifiés, comme par exemple les interactions d'ordre toxicocinétique, l'importance de ces interactions est plus difficile à prévoir (Commission Européenne, 2010).

2. L'apport de l'INRA à la problématique

Au cours des 3 dernières années, l'INRA a contribué de manière significative à la problématique des mélanges en étant partenaire ou coordonateur de plusieurs projets d'envergure sur les cocktails de pesticides : projets ANR EXPOMATPEST (Impact d'une exposition maternelle à un mélange de pesticides sur l'immunité, l'hématopoïèse et le système nerveux central de la descendance), PERICLES (Exposition à des mélanges de substances actives et possibles effets combinés sur des cellules humaines), ou de perturbateurs endocriniens : projet du programme national recherche sur les perturbateurs endocriniens CIME (Exposition continue à des mélanges de perturbateurs endocriniens à doses environnementales : impact sur la reproduction, le développement et le comportement alimentaire).

Les équipes toulousaines de TOXALIM travaillent actuellement sur la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques seuls et en mélange (projet INCA HYDROMEL : hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélange : effets génotoxiques et biomarqueurs) et participent activement au projet ANR NEURODEVETOX (évaluation développementale, comportementale, cellulaire et moléculaire de la toxicité embryo-fœtale et juvénile induite par l'exposition chronique en phases gestationnelle et lactationnelle à un mélange des 6 polychlorobiphényles NDl indicateurs dans un modèle murin).

Bien que le dénominateur commun à ces projets soit leur intérêt pour les mélanges, leurs objectifs respectifs sont sensiblement différents. Certains, comme PERICLES, HYDROMEL ou NEURODEVETOX sont proches de l'évaluation du risque et revendiquent de pouvoir améliorer la prédictibilité des effets des mélanges, d'autres se situent en amont de cette perspective et visent à étudier les modes d'action et les mécanismes d'interaction entre certains composés modèles vis-à-vis de certaines cibles tissulaires ou fonctions biologiques (CIME).

2.1. L'exposition : une composante essentielle du choix des mélanges

Dans ces projets de recherches, plusieurs stratégies ont guidé le choix des mélanges. Pour ce qui concerne les pesticides, la démarche initialement adoptée a consisté à retenir un nombre limité de substances (6) sur la base d'une part de leur lien présumé avec des atteintes hématopoïétiques et d'autre part de leur présence avérée dans les denrées d'origine végétale (Merhi *et al.*, 2010). Ce choix était principalement dicté par la cible toxicologique étudiée (les paramètres hématologiques). Les doses retenues, comprises entre 0.1 et 100 µg/kg, ont été calculées, pour chaque pesticide, sur la base de leur DJA et administrées à des souris pendant 4 semaines. Aucune comparaison entre l'effet du mélange et celui de chacun des constituants n'a été effectuée. Dans un second temps (projet EXPOMATPEST), un mélange de pesticides plus restreint (3 substances) a été étudié. L'objectif, dans ce cas étant de se préoccuper du risque pour l'enfant, les pesticides ont été incorporés à faible dose à de l'aliment distribué à des souris depuis l'accouplement jusqu'au sevrage des souriceaux. Ces derniers ont été ensuite nourris avec l'aliment reçu par leur mère pendant une période additionnelle de 11 semaines. Contrairement à la première étude, une comparaison des effets du mélange avec ceux observés à partir chacune des substances a été réalisée, non seulement sur l'hématopoïèse, mais également sur l'immunité, la fonction hépatique et le système nerveux central. Les principaux résultats de ces études sont présentés ultérieurement.

Si dans ces premiers travaux, la composition des mélanges testés a principalement été dictée par les cibles potentielles de certains produits phytosanitaires telle que la fonction hématopoïétique, d'autres études (PERICLES par exemple) ont tenté d'identifier les cocktails de pesticides auxquels les consommateurs ont le plus de chance d'être exposés. Ce calcul repose habituellement sur le croisement des données de consommation alimentaire avec celles concernant la contamination des aliments. L'originalité du programme PERICLES a été d'aborder la problématique des cocktails en partant de l'exposition réelle de la population française afin d'appréhender la nature des effets cocktails *in vitro* sur des cellules d'origine humaine (Crépet *et al.*, in press). Une méthode statistique de classification a été développée et appliquée à ces expositions afin de déterminer les principaux cocktails et les principaux aliments vecteurs. Sept cocktails contenant de 2 à 6 pesticides ont ainsi été identifiés et une batterie de tests toxicologiques *in vitro*, évaluant la viabilité cellulaire, la génotoxicité, l'activation de récepteurs xéno-hormonaux et d'autres biomarqueurs ont été réalisés sur des lignées cellulaires représentatives de différents organes humains (foie, rein, intestin, cerveau, côlon). Les résultats ont permis de concentrer la suite des études sur trois cocktails présentant les effets les plus significatifs. Les effets toxicologiques des différents mélanges ont été comparés aux modèles d'additivité des doses et d'additivité des réponses afin de déterminer s'il est possible de prévoir l'effet

d'un cocktail sur la base des connaissances des effets toxicologiques des pesticides seuls (Crépet *et al.*, in press).

Mesurer la concentration en contaminants dans des échantillons de sang ou d'urine prélevés dans la population représente un autre moyen d'estimer l'exposition de cette dernière aux substances chimiques. Bien que cette méthode présente des limites (mis à part le cas des polluants persistants et bioaccumulables, les substances détectées ne sont représentatives que d'une exposition récente ; par ailleurs, les résidus présents dans le sang ou l'urine sont le plus souvent des métabolites que l'on ne connaît pas toujours), elle a le mérite de pouvoir être menée à l'échelle de l'individu. Suite à la mise en place d'une collaboration avec l'INSERM, l'INRA a entrepris de caractériser l'exposition aux pesticides d'individus recrutés dans le cadre de la cohorte PELAGIE (Perturbateurs Endocriniens Etude Longitudinale sur les Anomalies de la Grossesse, l'Infertilité et l'Enfance). La constitution de cette cohorte de près de 3500 femmes enceintes de la région Bretagne a eu pour but d'évaluer les conséquences des expositions à divers contaminants, en particulier les pesticides, sur le déroulement de la grossesse, son issue et sur le développement psychomoteur de l'enfant. Ce travail mené par la plateforme AXIOM-METATOUL de l'Unité TOXALIM sur les échantillons d'urine des femmes enceintes a nécessité un développement méthodologique important pour déterminer, à partir de l'analyse des métabolites urinaires, le spectre d'exposition de ces femmes aux pesticides. Il a nécessité la mise en œuvre de méthodes séparatives et spectrométriques de dernière génération (chromatographie liquide ultra haute performance associée à la spectrométrie de masse haute résolution), mais également une connaissance très fine du métabolisme des pesticides (Jamin *et al.*, 2012).

Hormis l'attention qu'il est indispensable de porter à la composition du mélange à tester et aux concentrations qui doivent être utilisées pour être au plus proche de la réalité, toute réflexion sur l'exposition doit également inclure la période et la durée du traitement. Les phases critiques que constituent les périodes pré- et post-natales dans le processus des troubles endocriniens ou métaboliques pouvant conduire à l'apparition de pathologies à l'âge adulte impose que l'on s'intéresse en priorité à ces phases, notamment lorsque l'on s'intéresse à des mélanges de substances ayant des propriétés de perturbateurs endocriniens. Si le projet EXPOMATPEST, s'est intéressé aux effets d'un mélange chez des animaux exposés *in utero* et durant les premiers mois de la vie, le projet CIME a prolongé l'exposition jusqu'à la deuxième génération d'animaux issus de parents traités, mimant une situation d'exposition à des mélanges pendant une très longue période afin d'identifier d'éventuels effets trans-générationnels.

2.2. Le mode d'action : un élément déterminant de la démarche

Le mode d'action est également un élément clef lorsque l'on s'intéresse à la problématique des mélanges. L'interprétation des données conduisant à l'évaluation du risque n'est pas réalisée de la même manière selon que les constituants du mélange ont un mode d'action identique ou non. Ainsi, c'est sur la base d'un mode d'action commun (génétoxicité) conduisant à la cancérogénicité que l'effet de mélanges d'HAP est estimé. Lorsque les informations montrant que tous les effets toxiques d'intérêt partageant le même mode d'action sont suffisantes, alors un facteur d'équivalence est dérivé pour chaque composé du mélange par rapport à une substance de référence. Il représente alors tous les effets toxiques et toutes les concentrations d'exposition (INERIS, 2006). Ce cas particulier correspond à la méthode des facteurs d'équivalence toxique (toxic equivalent factor, ou TEF). L'évaluation des risques liés au mélange est ensuite menée à partir de l'exposition équivalente et de la relation dose-réponse de la substance de référence. Le travail réalisé par TOXALIM dans le cadre du projet HYDROMEL a conduit à proposer une nouvelle liste de TEF pour les HAP basée sur un test de génotoxicité *in vitro* récemment mis au point (γ -H2AX), par rapport au benzo(a)pyrène, l'HAP le plus connu (Audebert *et al.*, 2012). Les travaux se poursuivent afin de déterminer les niveaux d'incertitude associés aux interactions entre HAP lorsque ces derniers sont en mélange.

La connaissance préalable du mode d'action des substances peut également être à l'origine du choix délibéré de tester un mélange de composés dont le mode d'action (ou la cible) est différent, mais qui produiront un effet de même nature. La stratégie du projet CIME consiste à évaluer, sur différentes cibles, l'effet d'un mélange ternaire de perturbateurs endocriniens dont chacun des constituants présente un mécanisme d'action spécifique relevant de la dé-masculinisation ou de la féminisation, mais qui tous sont susceptibles de produire un même effet biologique final.

2.3. Quelques résultats marquants

Le programme de recherche EXPOMATPEST a montré que les pesticides seuls (atrazine, chlorpyrifos, endosulfan) aux doses auxquelles ils sont supposés ne pas exercer d'effet néfaste sur la santé perturbent l'hématopoïèse, l'immunité ainsi que l'expression de certains gènes hépatiques liés au stress et à la toxicité cellulaire. Ces effets ont été observés après une exposition pré- et postnatale mais certains effets ont été observés sur les souriceaux dès le sevrage. Au niveau hématopoïétique le mélange n'exerce pas d'effet supérieur à celui des pesticides seuls. En revanche, sur la plasticité synaptique à court terme, il exerce un effet supérieur à celui des pesticides individuellement considérés chez certains animaux de 14 semaines. Au niveau hépatique, le mélange reproduit globalement les modulations induites par les pesticides seuls en ce qui concerne l'expression des gènes de stress et de toxicité. De façon générale, l'impact du mélange peut difficilement être prédit à partir de l'impact des pesticides seuls puisque selon le paramètre étudié le mélange peut ou non exercer un effet supérieur ou égal à celui des pesticides pris individuellement. Les essais menés *in vitro* sur le même mélange à partir d'hépatocytes murins ou humains en culture primaire indiquent que les effets observés sur le mélange s'expliquent essentiellement par les effets du pesticide le plus actif (endosulfan ou chlorpyrifos selon les tests) (Rouimi *et al.*, 2012).

A partir des échantillons de sérum collectés dans le cadre du projet EXPOMATPEST, une analyse en métabolomique a été menée (programme « Exposition aux pesticides individuels ou en combinaison : évaluation de biomarqueurs », EPICEE, soutenu par l'ANSES). Dans les deux sexes, l'exposition alimentaire aux pesticides seuls est associée à une empreinte métabolique distincte de celle observée chez les animaux non exposés. De plus, chez les mâles et les femelles l'exposition au mélange est caractérisée par des modifications métaboliques différentes de celles observées chez les individus exposés aux pesticides seuls. Il faut également noter que des perturbations métaboliques entre les différents groupes animaux apparaissent dès le sevrage. Ces résultats montrent qu'il est possible de développer l'approche métabolomique pour caractériser des biomarqueurs plasmatiques de l'exposition alimentaire aux faibles doses de pesticides seuls ou en mélange (Merhi *et al.*, 2010).

Au cours des travaux qui ont précédé le projet CIME, il a été observé que les effets délétères provoqués par le mélange génistéine-vinchlozoline étaient généralement plus prononcés que ceux obtenus lors d'une exposition avec les molécules seules (Eustache *et al.*, 2009 ; Kouidhi *et al.*, 2012). Dans le cas de CIME, visant à étudier le mélange génistéine-vinchlozoline-bisphénol A, les effets obtenus avec le bisphénol A seul sont dans la plupart des cas supérieurs à ceux obtenus avec des mélanges contenant du bisphénol A et sont proches des effets obtenus avec le mélange génistéine-vinchlozoline à doses équimolaires. D'une manière générale, l'exposition continue aux mélanges à faibles doses, y compris au mélange ternaire, n'a pas les mêmes effets sur les paramètres physiologiques mesurés selon la génération considérée, et certains s'amplifient sur la génération F2 (non exposée), traduisant la mise en place probable de mécanismes épigénétiques qui restent à élucider.

L'étude des effets des 7 cocktails sélectionnés dans l'étude PERICLES a permis de mettre en évidence des effets cytotoxiques plus ou moins importants selon les cocktails et les lignées cellulaires. Un cocktail s'est révélé génotoxique sur une lignée hépatique (HepG2), avec un effet plus important que celui résultant de la somme des effets des constituants du mélange (Graillet *et al.*, 2012). D'autres

modes d'action, tel que la transactivation du récepteur PXR dans les cellules de foie, ont montré des effets infra-additifs des mélanges testés (Rouimi *et al.*, 2012). Les résultats mettent en évidence une grande variabilité de la sensibilité des modèles cellulaires et des tests réalisés. Ainsi, ces cocktails produisent des effets additifs mais aussi des effets supra ou infra-additifs, ce qui rend difficile la prédiction de la réponse des cocktails à partir des résultats des réponses et des doses des pesticides seuls.

Conclusion

Ces différents projets scientifiques et le réseau de partenaires qui a été mis en place ont permis de traiter des questions de recherche sur l'exposition aux mélanges, les interactions entre constituants d'un mélange, l'importance que revêt la fenêtre d'exposition, les systèmes biologiques pertinents, la modélisation des effets observés. Ils ont également nécessité le développement d'outils nouveaux tant au plan biologique, qu'analytique ou statistique. C'est ainsi que nous avons développé un test *in cellulo* en plaques de culture à 96 puits basé sur la phosphorylation de l'histone H2AX destiné à évaluer la génotoxicité des mélanges et de la comparer à celle des constituants examinés individuellement. Nous avons appliqué ce test à des mélanges d'hydrocarbures ou de pesticides et nous travaillons, en collaboration avec l'INERIS, à l'élaboration de modèles capables d'organiser ces données et de les interpréter. En matière de chimie analytique, les analyses de métabolites urinaires de pesticides semblent promises à un bel avenir. L'intérêt de cette approche semi-ciblée vient du fait que l'acquisition des données est réalisée de manière globale (full HRMS) et qu'il est donc possible a posteriori de rechercher des pesticides ou leurs métabolites non sélectionnés initialement. Le développement rapide de la métabolomique et les perspectives que cette approche ouvre en matière d'identification de biomarqueurs capable de révéler de façon précoce et sans a priori des dysfonctionnements cellulaires et tissulaires ont conduit l'INRA à développer ce type d'étude, en particulier pour l'appliquer aux mélanges.

Les données acquises au cours des trois dernières années et celles qui sont actuellement en cours de dépouillement suggèrent que l'hypothèse régulièrement faite en évaluation du risque qui consiste à ne pas considérer les interactions entre composants d'un mélange ne reflète pas la réalité. Les connaissances sur ces interactions sont pour l'instant fragmentaires, rendant leur prise en compte délicate. Il s'agit là d'un véritable champ de recherche auquel l'INRA participe activement.

Références bibliographiques

Audebert M., Zeman F., Beaudoin R., Péry A., Cravedi J.P., 2012. Comparative potency approach based on H2AX assay for estimating the genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicol Appl Pharmacol.* 260, 58-64.

Boobis A., Budinsky R., Collie S., Crofton K., Embry M., Felter S., Hertzberg R., Kopp D., Mihlan G., Mumtaz M., Price P., Solomon K., Teuschler L., Yang R., Zaleski R., 2011. Critical analysis of literature on low-dose synergy for use in screening chemical mixtures for risk assessment. *Crit Rev Toxicol.* 41, 369-383

Commission Européenne - European Commission, 2010. State of the art report on mixture toxicity – final report. Directorate General Environment, Brussels.
http://ec.europa.eu/environment/chemicals/pdf/report_Mixture%20toxicity.pdf

Crépet A., Héraud F., Béchaux C., Gouze M.E., Pierlot S., Fastier A., Leblanc J.C., Le Hégarat L., Takakura N., Fessard V., Tressou J., Maximilien R., De Sousa G., Nawaz A., Zucchini-Pascal N., Rahmani R., Audebert M., Graillet V., Cravedi J.P., 2012. The PERICLES research program: an

integrated approach to characterize the combined effects of mixtures of pesticide residues to which the French population is exposed. Toxicology, in press.

Eustache F., Mondon F., Canivenc-Lavier M.C., Lesaffre C., Fulla Y., Berges R., Cravedi J.P., Vaiman D., Auger J. 2009. Chronic dietary exposure to a low -dose mixture of genistein and vinclozolin modifies the reproductive axis, testis transcriptome and fertility. *Environ Health Perspect* 117, 1272-1279.

Graillet V., Takakura N. , Le Hegarat L., Fessard V., Audebert M., Cravedi J.P., 2012. Genotoxicity of pesticide mixtures present in the diet of the French population. *Environ Mol Mutagen*. 53, 173-184.

INERIS, 2006. Expositions mixtes et toxicité de mélanges. http://www.ineris.fr/centredoc/ERS-Melanges_Version-finale-3.pdf

Jamin E., Bonvallot N., Tremblay-Franco M., Cravedi J.P., Chevrier C., Cordier S., Debrauwer L., 2012. Untargeted screening of pesticides metabolites by LC-HRMS: a tool for human exposure evaluation? 19th International Mass Spectrometry Conference (IMSC), Kyoto, September 15-21.

Kouidhi W., Desmetz C., Nahdi A., Bergès R., Cravedi J.P., Auger J., El May M., Canivenc-Lavier M.C., 2012. In utero and lactational exposure to low-dose genistein-vinclozolin mixture affects the development and growth factor mRNA expression of the submandibular salivary gland in immature female rats. *Toxicol Pathol*. 40, 593-604.

Krishnan K. 2008. Expositions mixtes et toxicité de mélanges. Bulletin de veille scientifique n° 7, Juillet 2008. ANSES

Merhi M., Demur C., Racaud-Sultan C., Bertrand J., Canlet C., Blas Y. Estrada F., Gamet-Payraastre L. 2010. Gender-linked haematopoietic and metabolic disturbances induced by a pesticide mixture administered at low dose to mice. *Toxicology*, 267, 80-90.

Rouimi P., Zucchini-Pascal N., Dupont G., Razpotnik A., Fouché E., De Sousa G., Rahmani R., 2012. Impacts of low doses of pesticide mixtures on liver cell defence systems. *Toxicol. In Vitro*. 26, 718-726.