



anses

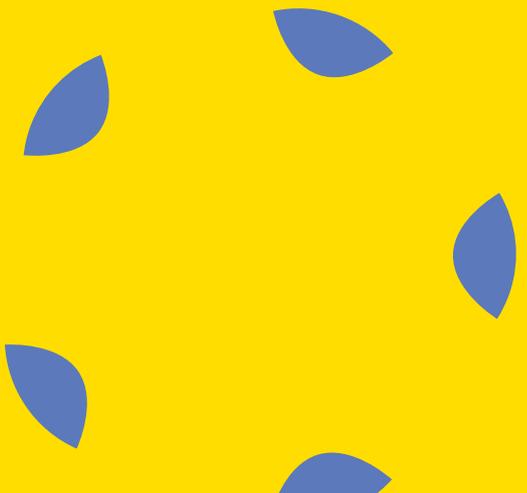
Valeurs sanitaires
de référence

État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges

Avis de l'Anses
Rapport d'expertise collective

Août 2022

Connaître, évaluer, protéger



Maisons-Alfort, le 10 août 2022

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

relatif à l'élaboration de valeurs de référence pour des mélanges de substances : état des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges, application aux valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAi) et aux valeurs toxicologiques de référence (VTR)

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.
L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.
Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.
Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).
Ses avis sont publiés sur son site internet.*

L'Anses a été saisie par la Direction générale de la santé (DGS) et la Direction de la prévention des risques (DGPR) le 2 juillet 2018 pour la réalisation de l'expertise suivante : « Evaluation de la pertinence d'un potentiel risque cumulé pour les substances benzène, toluène et xylènes ».

L'Anses s'est par ailleurs autosaisie le 24 avril 2016 pour la réalisation de l'expertise suivante : « Élaboration de VGAi pour un mélange ».

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La prise en compte de l'exposition humaine à des mélanges, ainsi que les risques sanitaires potentiels associés constituent un enjeu méthodologique pour l'Anses, notamment dans le cadre de ses missions pérennes d'expertise d'élaboration de valeurs de référence. Ces valeurs sont utiles, d'une part, pour l'évaluation des risques sur la santé, et, d'autre part, aux pouvoirs publics afin de fixer des concentrations réglementaires de substances chimiques qu'il convient de ne pas dépasser pour préserver la santé des populations (générale, travailleurs). Jusqu'à présent, il n'était proposé que des valeurs de référence pour une substance individuelle, ne prenant pas en compte la multi-exposition de la population.

L'Anses a lancé en 2016 des travaux d'expertise collective en vue d'élaborer des valeurs de référence pour des mélanges de substances chimiques. Les réflexions associées ont été mises en œuvre selon plusieurs phases d'expertise collective avec des objectifs distincts.

■ **Synthèse des connaissances sur les approches considérant les mélanges, en évaluation des risques sanitaires et pour l'élaboration des valeurs de référence**

L'Anses a dressé un état des lieux des méthodes existantes pour prendre en compte les mélanges dans les domaines de l'évaluation des risques sanitaires et de la construction de valeurs de référence. Ce rapport (intitulé « rapport méthodologique » dans cet avis) propose une série de recommandations méthodologiques, d'une part sur le choix des contaminants, et d'autre part sur les méthodes à employer pour la construction de valeurs de référence pour un mélange. Ces recommandations ont ensuite pu être appliquées à l'élaboration de valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAI) et de valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour des mélanges de substances.

■ **Élaboration de VGAI pour un mélange de substances : étude de cas pour un mélange de substances irritantes**

En 10 ans d'expertise sur l'élaboration de VGAI (2007-2017), l'Anses a étudié une dizaine de polluants dont plusieurs aldéhydes (ou assimilés). La problématique des mélanges a été discutée pour l'acroléine et l'acétaldéhyde dont l'exposition est souvent simultanée et associée à une exposition au formaldéhyde. Les aldéhydes, du fait de leurs similitudes structurales, ont un comportement toxicodynamique similaire au niveau du tractus respiratoire qui est connu pour être leur cible principale. Leurs effets pourraient s'additionner, voire se potentialiser. Ainsi, dans le cadre d'une première étude de cas appliquée à la construction de VGAI mélange, l'Anses a mis en application les recommandations issues de l'état des lieux en vue d'élaborer des VGAI pour un mélange d'aldéhydes élargi à d'autres substances irritantes présentes dans l'air intérieur. Les réflexions ont été structurées conformément aux recommandations du rapport méthodologique et ont permis de tester l'applicabilité des modèles existants.

■ **Proposition d'une méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX)**

Dans le cadre de la gestion sanitaire des sites et sols pollués, les services de l'État et les Agences régionales de santé (ARS) sont régulièrement confrontés à la problématique de l'évaluation des risques pour la santé des populations simultanément exposées à plusieurs polluants. La question d'un potentiel effet cumulé des substances chimiques identifiées est, par ailleurs, fréquemment soulevée par les riverains, les associations ou encore les élus, dans des situations analogues de sites et sols pollués, effet parfois désigné sous le vocable d'« effet cocktail ».

Dans ce contexte, la DGS et la Direction de la prévention des risques (DGPR) ont saisi l'Anses le 2 juillet 2018 afin d'évaluer la pertinence d'un potentiel risque cumulé pour les substances benzène, toluène et xylènes. L'Anses a décidé d'instruire cette saisine en proposant une méthode d'élaboration de VTR pour les mélanges et en l'appliquant au mélange benzène, toluène, xylènes auquel l'Anses a ajouté l'éthylbenzène, cette substance étant généralement présente dans l'environnement conjointement avec le benzène, le toluène et les xylènes.

Le présent avis intègre et rend compte des résultats et conclusions issus de ces différentes expertises.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences des comités d'experts spécialisés (CES) « valeurs sanitaires de référence » (CES VSR) et « évaluation des risques liés aux milieux aériens » (CES Air).

- Concernant la synthèse des connaissances (rapport méthodologique)

L'Anses a confié l'expertise à deux experts rapporteurs, membre chacun d'un des 2 CES. Les travaux d'expertise ont été soumis régulièrement aux CES VSR et CES Air tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

Le rapport méthodologique « État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges - Réflexion pour l'élaboration de valeurs de référence » tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres des CES. Ces travaux ont été discutés en CES VSR entre le 8 décembre 2016 et le 3 mai 2018 et en CES Air entre le 17 décembre 2015 et le 14 janvier 2021. Le rapport méthodologique a fait l'objet d'une consultation publique du 7 juin au 19 septembre 2021. Les commentaires reçus ont été examinés et discutés par les CES VSR et Air. La version finale du rapport a été adoptée par le CES VSR le 11 mars 2022.

- Concernant la construction de VGAI pour un mélange d'irritants

L'Anses a confié l'expertise à deux groupes de travail (GT) :

- le GT « VGAI Mélange », pour la sélection des substances chimiques du mélange et l'élaboration de la démarche VGAI pour un mélange d'irritants ;
- le GT « Métrologie » qui assure la cohérence des travaux d'expertise de l'Anses relatifs aux VGAI et aux VLEP en ce qui concerne l'évaluation des méthodes de mesures disponibles pour la comparaison des niveaux d'exposition sur le lieu de travail et dans l'air intérieur.

Les travaux d'expertise des GT ont été soumis régulièrement, en fonction de leur nature, au CES VSR ou au CES Air, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

Le rapport d'expertise collective « Construction de VGAI mélange : Étude de cas pour un mélange de substances irritantes » compilant les produits des 2 GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres des CES. Ces travaux ont été discutés en CES VSR entre le 13 septembre 2018 et le 12 mars 2021 et en CES Air entre le 6 avril 2018 et le 18 mars 2021. Ce rapport et les conclusions¹ ont fait l'objet d'une consultation publique du 7 juin au 19 septembre 2021. Les commentaires reçus ont été

¹ À l'exclusion de la partie « Accompagnement métrologique et mise en perspective » qui a été réalisée ultérieurement.

examinés et discutés par les CES VSR le 11 mars 2022 et Air le 4 octobre 2021. Les travaux relatifs à la démarche méthodologique et à l'élaboration de VGAI pour un mélange d'irritants ont été adoptés par le CES VSR réuni le 11 mars 2022. Les travaux d'expertise relatifs à l'accompagnement métrologique et la mise en perspective ont été adoptés par le CES Air le 12 mai 2022.

- **Concernant l'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX)**

L'Anses a confié l'expertise au GT « BTEX », rattaché au CES VSR. Les travaux d'expertise du GT ont été soumis régulièrement au CES VSR entre le 21 juin 2018 et le 11 mars 2022, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques.

Le rapport d'expertise collective « Méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX) » produit par le GT tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres du CES VSR. Un expert du GT VTR BTEX a exprimé une position divergente en ce qui concerne l'analyse de la publication Li *et al.* de 2010. Le motif de cette position divergente est détaillé en annexe 2 du rapport d'expertise collective.

La version finale du rapport a été adoptée par le CES VSR le 11 mars 2022. Lors de cette validation, un expert du CES VSR s'est abstenu. Cette abstention est détaillée en annexe 2 du rapport d'expertise collective.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DES CES

3.1. État des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges : réflexion pour l'élaboration de valeurs de référence

Les données bibliographiques utilisées dans le rapport sont issues de revues de la littérature conduites sur les bases de données bibliographiques Pubmed, Scopus et Web of science jusqu'en septembre 2020, complétées par l'identification de rapports institutionnels, par les contributions des experts impliqués dans ces travaux et des retours suite à la consultation publique.

Cette première étape de l'expertise visait à réaliser un état des lieux des méthodes existantes pour prendre en compte les mélanges dans le domaine de l'évaluation des risques pour la santé humaine et la construction de valeurs de référence incluant les valeurs guides.

Dans le cadre de la gestion des risques liés aux pollutions des milieux, quelques familles chimiques sont déjà prises en compte en mélange et des valeurs guides ou des valeurs limites « mélange » sont proposées pour certaines de ces familles (ex. hydrocarbures aromatiques

polycycliques (HAP), pesticides, composés organiques volatils (COV), dioxines). Ces valeurs sont encore peu nombreuses et ne sont pas toutes fondées sur des considérations sanitaires : seules celles des HAP et des dioxines sont basées sur une notion d'équivalence toxique.

Des modèles prenant en compte les mélanges dans la démarche d'évaluation des risques sanitaires ont été proposés dans la littérature et sont utilisés depuis la publication des premiers guides d'agences américaines, telles que l'agence de protection de l'environnement (US EPA) dans les années 80.

En évaluation des risques liés à un mélange de substances, deux modèles intégrant ou non les interactions potentielles entre les contaminants, peuvent s'appliquer, selon les substances et les effets biologiques considérés :

- le modèle de l'additivité consiste à additionner les réponses biologiques de chaque contaminant d'un mélange pour évaluer le risque du mélange. L'additivité des doses implique que les substances du mélange agissent sur une même cible biologique et que seule l'amplitude de la réponse diffère. Ainsi, la toxicité de chaque substance est approximée relativement à une autre de manière quantitative. L'additivité des réponses repose sur l'hypothèse que les substances du mélange agissent indépendamment les unes des autres et que la réponse (probabilité d'apparition de l'effet) peut être prédite à partir de la réponse de chacun des constituants.
- lorsque l'effet d'un mélange ne peut être prédit par le principe de l'additivité, le modèle d'interactions s'applique. Il peut s'agir d'interactions positives (synergie ou supra-additivité) ou négatives (antagonisme ou infra-additivité). Ces interactions sont souvent étudiées pour des mélanges simples ($n = 2$) et à des doses plutôt élevées, pour comprendre les aspects mécanistiques explicatifs.

Le modèle de l'additivité, basé sur l'absence *a priori* d'interactions, considère que chaque substance du mélange n'a pas d'influence sur la toxicité des autres constituants. Si ce modèle est simpliste au regard de la réalité des mécanismes toxicologiques, il reste dans la plupart des cas plausible pour les expositions environnementales à faibles ou très faibles doses. Les études indiquent généralement que ce modèle prédit raisonnablement la toxicité des mélanges ayant des mécanismes d'action communs. Même si on peut observer des écarts entre réponses prédites et observées, elles restent d'une manière générale faibles (facteur 1 à 3). Ainsi, il est fait l'hypothèse qu'aux faibles doses une interaction (synergie ou antagonisme), si elle se produit, reste peu susceptible de générer un résultat très différent de l'additivité au regard des incertitudes inhérentes à la démarche même d'évaluation des risques. Ce modèle d'additivité est recommandé par les institutions d'évaluation des risques (US EPA, 2008 ; Kortenkamp, 2009 ; SCHER, 2011 ; EFSA, 2013).

Pour autant, les connaissances actuelles sur les mélanges ne permettent pas de vérifier l'absence d'interactions dans tous les cas de figures : peu d'études ont été réalisées aux doses environnementales avec des mélanges représentatifs des expositions réellement rencontrées sur le terrain. L'hypothèse d'additivité est utilisée par défaut, sauf si des données disponibles dans la littérature la remettent en cause.

Modèles d'évaluation des risques cumulés

Trois modèles d'évaluation des risques cumulés pour des mélanges de substances chimiques, fondés sur l'hypothèse d'additivité, sont principalement utilisés.

- *Hazard index* (HI)

Cette approche consiste à sommer les quotients de danger (QD) de chaque constituant du mélange (Équation 1). Son intérêt repose sur sa simplicité d'utilisation et sa capacité à être utilisable dans toutes les situations, dès lors qu'on dispose de VTR. L'inconvénient principal est que la VTR de chaque constituant est fondée sur un effet critique, qui peut être différent d'un constituant à l'autre, et conduire à une surestimation du risque. C'est pourquoi cette approche constitue la 1^{ère} étape dans les approches par paliers (si le HI est inférieur à 1, il n'est pas utile d'aller plus loin). Cette approche peut néanmoins être améliorée en considérant les données pour un organe cible ou effet spécifique commun. Elle est recommandée dans les guides méthodologiques pour la gestion des installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE), des sites et sols pollués et dans le cadre des réglementations sur les produits phytopharmaceutiques et biocides.

$$HI = \sum_{i=1}^n QD_i = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{VTR_i}$$

Équation 1 : Principe de calcul du HI

où HI est le *Hazard index* (indice de risque), QD_i le quotient de danger du constituant i, DJE_i la dose journalière d'exposition au constituant i et VTR_i la VTR du constituant i.

- *Point of departure index* (PoDI)

Ce modèle a été proposé pour éviter les inconvénients du HI, liés au fait qu'il puisse reposer sur des effets critiques différents. Ce modèle consiste à comparer l'exposition des substances directement aux indicateurs de toxicité animale recueillis dans la littérature pour l'effet commun (Équation 2). Ces indicateurs sont les NOAEL, LOAEL et BMDL² (« *point of departure* » ou PoD). Dans l'idéal, il est souhaitable que les PoD soient de même nature. Le facteur d'incertitude n'étant pas pris en compte dans cette approche, le résultat est présenté avec une marge de sécurité équivalente à ce facteur global (généralement 100). Ce modèle est globalement peu appliqué par rapport aux autres.

$$PoDI = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{PoD_i}$$

Équation 2 : Principe de calcul du PoDI

où PoDI est le *Point of Departure Index* (indice de point de départ), DJE_i la dose journalière d'exposition du constituant i et PoD le point de départ du constituant i.

- *Relative potency factors/ toxic equivalency factors* (RPF / TEF)

Il s'agit de l'application historique du modèle d'additivité des doses où chaque constituant peut être considéré comme une dilution du constituant le plus toxique du mélange ou celui pour lequel les données toxicologiques comportent le moins d'incertitudes. Dans ce cadre, on exprime la dose du mélange (D_{mix} ou TEQ) comme la somme des doses pondérées par les facteurs de toxicité relative des constituants, appelé Facteur d'équivalence toxique ou facteur de puissance relative en français (cf Équation 3). Chaque facteur est construit en comparant le PoD du constituant à celui du composé de référence du mélange (Équation 4).

² LOAEL : *Lowest observed adverse effect level*; NOAEL : *No observed adverse effect level*, BMD : *Benchmark Dose*

$$D_{\text{mix}} = \sum_{i=1}^n \text{DJE}_i \cdot \text{RPF}_i \quad (M) \quad \text{OU} \quad \text{TEQ} = \sum_{i=1}^n \text{TEF}_i \cdot \text{DJE}_i$$

Équation 3 : Principe de calcul de D_{mix} et TEQ

où D_{mix} est la dose du mélange ou TEQ (*Toxicity Equivalency Quantity*) l'équivalent toxique du mélange, DJE_i la dose journalière d'exposition de chaque constituant i pondérée par son facteur de puissance relative (RPF_i) ou son facteur d'équivalence toxique (TEF_i).

$$\text{RPF}_i = \frac{\text{PoD}_{ci}}{\text{PoD}_i}$$

Équation 4 : Calcul des facteurs de puissance relative pour les substances i du mélange (RPF_i)

où PoD est l'indicateur toxicologique (NOAEL, LOAEL, BMDL, *etc.*) utilisé pour comparer la toxicité des substances, l'indice « ci » correspondant au composé index ou composé de référence et l'indice « i » se rapportant à l'un des composés du mélange.

Le QD pour le mélange (HQ_{mix}) est ensuite calculé comme le ratio entre la « dose du mélange » (D_{mix}) et la VTR du constituant de référence. Cette approche est intéressante, à partir du moment où il est possible d'identifier des effets communs et des mécanismes en lien avec des événements biologiques / physiologiques suffisamment connus. Bien que théoriquement basés sur un mécanisme spécifique, la plupart des RPF/TEF qui découlent de ces travaux ont été construits à partir de la comparaison de données toxicologiques variées, dès lors qu'une relation dose-réponse était disponible : différentes approches expérimentales (*in vivo / in vitro*), différentes durées ou voies d'exposition, ou encore différents indicateurs toxicologiques (LOAEL, NOAEL, BMD). Cela constitue un inconvénient majeur lorsque l'on s'intéresse à la notion de toxicité relative où ces différences peuvent générer des distorsions dans les potentiels toxiques.

En plus de ces trois modèles reposant sur l'hypothèse d'additivité, des modèles basés sur des interactions sont parfois spécifiques de mélanges particuliers : implication de paramètres précis (facteurs d'interactions basés sur les doses létales DL_{50}^3 , calcul de coefficient synergique ou antagoniste basé sur l'expérimentation, modélisation *Physiologically based pharmacokinetics* (PBPK)). L'utilisation de ce type de modèles nécessite des données expérimentales suffisamment nombreuses pour établir le niveau de preuve d'une interaction, ce qui est rarement le cas, dans les mélanges de substances à faibles doses associés aux expositions environnementales.

Sur la base de cet état de l'art, des recommandations visant à élaborer des valeurs de référence pour un mélange sont proposées. Elles concernent d'une part, le choix des contaminants, et d'autre part, les méthodes à employer pour la construction des valeurs de référence pour un mélange :

- ➔ identifier les substances pour lesquelles la population est co-exposée en se basant sur des études représentatives des expositions de la population ou des groupes de sous-population ;

³ DL50 : Dose létale pour 50 % des animaux exposés par voie orale ou cutanée (INRS, 2018)

- ➔ regrouper les substances sur la base d'effets ou de mécanismes communs en fonction des connaissances disponibles ;
- ➔ réaliser des profils toxicologiques intégrant les données sur les interactions potentielles pour les co-expositions les plus fréquentes ;
- ➔ utiliser l'hypothèse d'additivité, si les données recueillies dans les profils ne la remettent pas en cause (donc en approche par défaut) :
 - selon une approche simplifiée d'additivité (à la façon du Hazard Index ou HI) pour les substances dont le mécanisme n'est pas suffisamment connu ;
 - selon une approche d'additivité des doses à la façon des facteurs d'équivalence toxique ou de puissance relative (*Toxic Equivalency Factors* (TEF) ou *Relative Potency Factors* (RPF)) pour toutes les substances ayant des mécanismes ou des conséquences cellulaires communes.
- ➔ compléter la mise en œuvre de ces approches par l'identification du ou des constituants du mélange les plus contributeurs au risque.

3.2. Construction de VGAI mélange : étude de cas pour un mélange de substances irritantes

Considérant la problématique de l'exposition à des mélanges d'aldéhydes dans les environnements intérieurs, soulevée à l'occasion de la construction des VGAI pour le formaldéhyde, l'acroléine et l'acétaldéhyde, cette étude de cas s'est intéressée à un mélange d'aldéhydes pouvant être élargi à d'autres substances irritantes respiratoires et/ou oculaires présentes dans les environnements intérieurs. Conformément aux recommandations issues du rapport méthodologique, la démarche suivante a été mise en œuvre : (1) choix des substances constituant le mélange, (2) sélection d'un modèle de construction de VGAI pour un mélange d'irritants. Cela a permis de proposer une démarche VGAI pour un mélange d'irritants accompagnée de considérations métrologiques.

3.2.1. Choix des substances constituant le mélange d'irritants

Ce travail de sélection a consisté dans un premier temps à croiser la liste des substances présentes dans l'air intérieur élaborée par l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI) pour sa seconde campagne nationale « Logements » (CNL2) avec les données sur les propriétés irritantes réglementaires des substances chimiques (classification européenne « CLP » - Règlement (CE) 1272/2008). Dans un deuxième temps, la sélection des substances a été affinée en considérant les substances fréquemment détectées dans les environnements intérieurs (logements, bureaux, écoles) et en procédant à une recherche complémentaire pour les substances de la famille des aldéhydes, bien connues pour leurs propriétés irritantes. Finalement, la liste des substances sélectionnées a été complétée après consultation de plusieurs instances d'expertise au sein de l'Agence (CES Air, CES VSR et GT « Vigilance des produits chimiques »).

Le mélange d'étude est constitué de 15 substances irritantes pouvant être regroupées en 6 familles chimiques différentes :

- aldéhydes : acroléine, acétaldéhyde, formaldéhyde, propionaldéhyde, crotonaldéhyde, glyoxal, hexaldéhyde et butyraldéhyde ;
- hydrocarbures aromatiques : styrène, 1,2,4-triméthylbenzène, benzène ;
- phénols : phénol ;
- éthers de glycol : 2-butoxyéthanol ;

- composés inorganiques : dioxyde d'azote (NO₂) ;
- terpènes : limonène.

3.2.2. Sélection d'un modèle de construction de VGAI pour un mélange d'irritants

Afin d'orienter la sélection d'un modèle de construction de VGAI, une revue de la littérature sur les effets et mécanismes d'action « irritants » pour les 15 substances du mélange d'étude a été réalisée en intégrant les données sur les interactions potentielles.

Il est possible de différencier deux types d'irritations selon les effets observés et les mécanismes impliqués : l'irritation sensorielle (effet chimio-sensoriel) et l'irritation lésionnelle (lésions généralement locales des tissus).

Les données identifiées sur les effets irritants (oculaires et respiratoires) pour une exposition *via* l'air proviennent essentiellement d'études expérimentales conduites chez l'animal (rongeurs, principalement des souris et des rats) mais également chez l'être humain. Quelques données sont issues d'études épidémiologiques ou de rapports de cas.

Le mode d'action à l'origine des effets d'irritation sensorielle est commun à l'ensemble des substances. Il découle principalement de la mise en jeu d'un réflexe d'alerte et de protection de l'organisme vis-à-vis des substances chimiques en contact avec les muqueuses des yeux et des voies respiratoires. Ce réflexe est médié par le nerf trijumeau. Les effets d'irritation sensorielle apparaissent à des doses plus faibles que l'irritation induisant des dommages irréversibles.

Outre les paramètres quantitatifs classiques (NOAEL et LOAEL), un paramètre utilisé pour l'évaluation des effets irritants aigus, et plus spécifiquement l'irritation sensorielle respiratoire, a été identifié : la RD50. Mesurée chez l'animal, cette valeur correspond à la concentration d'exposition responsable d'une diminution de 50% de la fréquence respiratoire. Les études ayant mesuré des RD50 sont nombreuses et concernent toutes les substances du mélange d'étude hormis le glyoxal et le benzène.

Des corrélations sont observées entre la RD50 et (i) des LOAEL pour des irritants sensoriels identifiés chez l'être humain, (ii) des VLEP pour des irritants sensoriels identifiés chez l'être humain et (iii) des VTR pour des expositions aiguës. Des RD50 ont été utilisées pour élaborer des valeurs limites dans différents contextes (professionnel, qualité de l'air des bureaux, *etc.*). Les éléments analysés indiquent que la diminution de la fréquence respiratoire chez la souris, et donc la RD50, peut être utilisée comme marqueur de la réponse nociceptive (autrement dit, d'irritation sensorielle) chez l'animal. Concernant l'extrapolation des données à l'être humain, des réponses à l'irritation sensorielle sont également observables, même si elles sont qualitativement différentes de celles observées chez la souris. Contrairement aux effets irritants lésionnels, la RD50 chez la souris et plus largement les réponses réflexes à l'irritation sensorielle dans toutes les espèces, ne sont pas dépendantes de la durée de l'exposition aiguë à des irritants. De plus, en cas d'exposition aiguë, la prévention de l'irritation sensorielle prévient aussi les effets irritants lésionnels. Ce n'est pas nécessairement le cas quand l'exposition est prolongée ou répétée.

Une RD50 est disponible pour 13 des 15 substances du mélange d'étude et les études expérimentales disponibles, notamment chez l'être humain, rapportent des effets d'irritation sensorielle au niveau des yeux et/ou des voies respiratoires supérieures pour plusieurs substances du mélange d'étude.

La RD50 est le test de référence pour la mesure de l'irritation sensorielle respiratoire. Bien que parcellaires, les données actuellement disponibles concernant l'irritation sensorielle oculaire semblent indiquer que les concentrations irritantes pour les yeux sont les mêmes que celles qui sont irritantes pour les voies aériennes.

Considérant l'ensemble des éléments recensés sur la RD50, l'usage de cet indicateur **afin de comparer l'intensité des effets d'irritation sensorielle respiratoire de diverses substances chez l'être humain pour des expositions de courte durée par inhalation a été jugé pertinent.**

Conformément aux recommandations du rapport méthodologique, après avoir rassemblé les données toxicologiques pertinentes relatives aux substances du mélange d'étude, l'hypothèse d'additivité peut être appliquée par défaut. En effet, peu d'études ont investigué les synergies ou les antagonismes liés aux mélanges d'irritants et il est difficile d'en tirer des conclusions généralisables pour l'ensemble des substances du mélange d'étude. Les données identifiées pour les effets d'irritation sensorielle concernent les interactions entre 3 substances du mélange d'étude (formaldéhyde, acétaldéhyde et acroléine) et ne remettent pas en cause l'applicabilité de l'hypothèse d'additivité.

Pour élaborer la « démarche VGAI pour un mélange d'irritants », une **approche par facteurs de puissance relative (RPF)** a été mise en œuvre.

La RD50 est utilisée en tant que PoD, afin de réduire les incertitudes, tout en assumant les limites de l'usage de ce paramètre. De plus, comme explicité précédemment, le mécanisme d'action à l'origine des effets d'irritation sensorielle est commun à l'ensemble des substances, justifiant la mise en œuvre d'une approche d'additivité des doses plus élaborée que le HI. Les substances ne disposant pas de RD50 (benzène et glyoxal) ont été exclues du mélange final à considérer. A l'inverse, plusieurs substances disposant de RD50 et fréquemment rencontrées dans les environnements intérieurs, ont été intégrées au mélange final considéré (ozone, α -pinène, p-xylène, m-xylène, o-xylène, xylènes, éthylbenzène, toluène).

3.2.3. Présentation de la démarche « VGAI pour un mélange d'irritants »

Le résultat de cette étude de cas est une proposition de démarche permettant de prendre en compte les effets irritants sensoriels aigus d'un mélange de substances fréquemment rencontrées dans l'air intérieur. Ce n'est pas une VGAI telle que définie dans le guide méthodologique de l'Anses (2016a)⁴ puisque qu'il ne s'agit pas ici de proposer une valeur déterminée pour une substance ou un mélange précis.

Une première étape de la démarche consiste à calculer la « concentration normalisée du mélange » (C_m) à partir des données de concentration individuelle de chaque substance et des RPF calculés (RPF_i) (Tableau 1). Il s'agit conceptuellement de calculer, tel que mentionné dans l'

$$C_m = \sum_{i=1}^n (C_i \times RPF_i)$$

« C_m » : concentration normalisée du mélange
« C_i » : concentration d'une substance i
« RPF_i » : facteur d'équivalence toxique de la substance i

⁴ Une VGAI est définie comme une valeur numérique associée à un temps d'exposition correspondant à une concentration dans l'air d'une substance chimique en dessous de laquelle aucun effet sanitaire ou aucune nuisance ayant un retentissement sur la santé (dans le cas de composés odorants) ne sont en principe attendus pour la population générale.

Équation 5, une concentration « équivalente formaldéhyde » pour chaque substance (Ci) et de les sommer.

Équation 5 : Calcul de la concentration normalisée du mélange (Cm)

Tableau 1 : RPF calculés pour les substances du mélange d'irritants

| Substances | RD50 mesurés chez la souris (ppm) | RPF |
|------------------------|-----------------------------------|----------|
| Acroléine | 1,7 | 2,5 |
| Ozone | 4 | 1,1 |
| Crotonaldéhyde | 4,2 | 1 |
| Formaldéhyde | 4,3 | 1 |
| Phénol | 166 | 0,03 |
| NO ₂ | 349 | 0,01 |
| Styrène | 574 | 0,007 |
| 1,2,4-triméthylbenzène | 578 | 0,007 |
| α-pinène | 1052 | 0,004 |
| Hexaldéhyde | 1073 | 0,004 |
| Butyraldéhyde | 1274 | 0,003 |
| Ethylbenzène | 1306 | 0,003 |
| p-xylène | 1325 | 0,003 |
| Limonène | 1355 | 0,003 |
| m-xylène | 1360 | 0,003 |
| o-xylène | 1467 | 0,003 |
| Xylènes | 1470 | 0,003 |
| Propionaldéhyde | 2294 | 0,002 |
| 2-Butoxyéthanol | 2825 | 0,002 |
| Acétaldéhyde | 3574 | 0,001 |
| Toluène | 4976 | 0,0009 |

Cette valeur Cm est ensuite comparée à la VGAI court terme pour l'irritation sensorielle du composé de référence, le formaldéhyde, qui est de 100 µg.m⁻³ (Anses, 2018). Si la concentration normalisée est inférieure à la VGAI, alors il n'est pas attendu d'effet d'irritation sensorielle dans la population.

Plus largement, cette démarche est applicable pour l'évaluation des risques d'irritation sensorielle liés à l'exposition aiguë par inhalation de n'importe quel mélange, sous réserve qu'un RPF puisse être calculé pour les substances considérées. Il est à noter que seuls les effets irritants sensoriels des substances en mélange sont pris en compte *via* la mise en œuvre de cette démarche. Les autres effets sanitaires aigus ou les effets sanitaires chroniques (y compris les effets irritants), induits individuellement par chacune de ces substances ne sont pas inclus dans la démarche. Ainsi, les valeurs de référence individuelles par inhalation (VGAI, VTR) construites pour les substances considérées sont à respecter (Figure 1).

Evaluation des risques sanitaires

Données individuelles de concentrations pour les substances du mélange

2 approches à conduire en parallèle

Risques liés aux effets sanitaires individuels des substances

Calcul des QD individuels

$$QD = \frac{DJE_i}{VTR_i}$$

Risques liés aux effets irritants du mélange

Calcul du QD pour le mélange

$$QD_{mélange} = \frac{C_m}{VTR_{Cl}}$$

DJE_i et VTR_i sont respectivement la dose journalière d'exposition et la VTR du constituant i ; C_m est la concentration normalisée du mélange et VTR_{Cl} est la VTR du composé de référence

Figure 1 : Évaluation des risques sanitaires pour des mélanges de substances irritantes rencontrées dans un environnement

Une analyse des limites et incertitudes a été réalisée et a porté sur le choix des substances constituant le mélange d'irritants et la sélection du modèle de construction de VGAI pour un mélange. Elle a relevé des inconnues en termes d'impact sur l'évaluation des effets irritants du mélange. Au global, les hypothèses retenues tendent majoritairement à surestimer le risque d'irritation sensorielle du mélange considéré.

3.2.4. Accompagnement métrologique des VGAI pour un mélange d'irritants

Des méthodes de mesure multi-composés et par famille chimique ou composés d'intérêt ont été identifiées afin de décrire et de discuter leur mise en œuvre pour la mesure des composés du mélange final d'irritants.

Concernant les méthodes de mesure multi-composés, trois méthodes de mesure dans l'air des lieux de travail et l'air intérieur ont été recensées auprès des sources reconnues proposées dans la méthodologie du GT « Métrologie », complétées par de la documentation de fabricants :

- Méthode n°1 : prélèvement par canister avec préconcentration et analyse par chromatographie gazeuse (GC/MS) ;
- Méthode n°2 : Prélèvement actif sur tube adsorbant multicouches, désorption thermique et analyse par chromatographie gazeuse (GC/MS) ;
- Méthode n°3 : analyseur par spectrométrie de masse à réaction de transfert de protons (spectrométrie de masse proton-transfert-réaction (PTR-MS)).

Ces méthodes visent la mesure de différents composés organiques volatils (COV). Les 2 premières ont déjà fait l'objet d'une évaluation selon la démarche mise en œuvre par le GT « Métrologie ». Cette démarche d'évaluation vise à recommander une ou plusieurs méthodes de référence permettant d'effectuer des mesures de concentration pour certaines substances du mélange d'irritants.

La méthode n°1 reposant sur un prélèvement par canister a été la seule méthode recommandée pour la mesure de l'acroléine. Cette méthode n'a pas été recommandée pour la mesure du toluène et de l'éthylbenzène en raison d'une insuffisance de données de validation pour ces composés.

La méthode n°2 concerne la mesure de composés organiques volatils (COV) sur tube multi-adsorbant par désorption thermique suivie d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse avec détection par détecteur à ionisation de flamme ou spectrométrie de masse. Il s'agit d'une méthode de *screening* pour laquelle il existe peu de données de validation.

La méthode n°3 reposant sur la spectrométrie de masse à ionisation chimique par transfert de protons a été développée pour la mesure dans l'air ambiant. Il s'agit d'un instrument de mesure en continu et à lecture directe appelé PTR-MS. Les données de la littérature font état de limites sur l'identification des composés, sur les interférences et contraintes de réglages ainsi que sur un traitement de données pour correction de biais. Les données de validation de ces instruments de mesure en continu et à lecture directe déployés dans les environnements intérieurs restent à documenter à ce jour.

La recherche bibliographique a identifié des articles portant sur l'analyse simultanée de plusieurs COV et a permis de dresser une liste d'autres méthodes utilisées sur le terrain. Les études récentes portent sur les microcapteurs, appelés « systèmes capteurs ». Ce domaine technologique connaît une forte évolution depuis quelques années s'illustrant par une multiplication de systèmes capteurs disponibles sur le marché et un nombre croissant d'études et de projets sur le sujet. L'expertise de l'Anses dédiée à ces « systèmes capteurs » a montré que l'exactitude et la fiabilité des mesures des systèmes capteurs, bien que très variables selon les technologies et les polluants, restent inférieures à celles attendues dans les méthodes de référence. De plus, le manque de spécificité des systèmes capteurs pour les COV est un facteur limitant. Toutefois des améliorations sont en cours.

Concernant les méthodes de mesure par famille chimique, les méthodes classiquement mises en œuvre pour la mesure d'aldéhydes et d'hydrocarbures aromatiques ont été évaluées par le GT « Métrologie » dans des expertises VGAI antérieures de l'Anses (formaldéhyde (2018), toluène (2018), éthylbenzène (2016), acétaldéhyde (2014), acroléine (2013) et NO₂ (2013)).

La méthode reposant sur un support imprégné de 2,4-dinitrophénylhydrazine (2,4-DNPH) a été recommandée pour le formaldéhyde mais pas pour la mesure de l'acroléine. Des limites sont documentées dans la littérature ; elles concernent la dégradation des dérivés d'acroléine à la fois sur le support de prélèvement et dans la solution de désorption pour les méthodes de mesure reposant sur la réaction de l'acroléine avec la 2,4-DNPH. L'instabilité et la réactivité des dérivés formés sont aussi mentionnées pour le crotonaldéhyde car il s'agit d'un aldéhyde insaturé ; ces deux limites ne sont pas observées pour des aldéhydes saturés tels que le formaldéhyde ou l'acétaldéhyde.

Pour la mesure d'hydrocarbures aromatiques, les méthodes de mesure classiquement mises en œuvre reposent sur un prélèvement actif ou passif sur tube adsorbant, suivi d'une désorption par solvant ou désorption thermique et analyse par chromatographie gazeuse. Elles peuvent également servir à la mesure d'autres COV, par exemple, les familles de terpènes et d'éthers de glycol. Le choix de l'adsorbant ou de la combinaison d'adsorbants peut se faire au regard des composés recherchés. Les caractéristiques des principaux adsorbants utilisés pour la mesure dans l'air ambiant et leur adaptation en fonction des caractéristiques physico-chimiques des substances sont reprises à titre indicatif en Annexe 1.

Pour les composés inorganiques, les méthodes de mesure du dioxyde d'azote (NO₂) et de l'ozone (O₃) recensées sont spécifiques, et seules celles du NO₂ ont été évaluées par le GT « Métrologie » dans des travaux d'expertise antérieurs. Il s'agit, soit de méthodes d'analyse en continu mises en œuvre dans le cadre de la réglementation relative à la surveillance de l'air ambiant, soit de méthodes de mesure reposant sur un prélèvement actif ou passif sur un tube avec un réactif d'absorption suivi d'une analyse par spectrophotométrie ou chromatographie ionique.

Au-delà de la méthode, la caractérisation d'une exposition de courte durée nécessite de mettre en œuvre une stratégie d'échantillonnage aussi bien d'un point de vue spatial que temporel. L'identification des sources et/ou des situations à l'origine de pics d'exposition est primordiale en vue de protéger des effets irritants. Cet objectif ne peut pas être satisfait par des méthodes de mesure globales telles que les nez électroniques ou systèmes capteurs non spécifiques qui ne permettent pas d'identifier les différents composés du mélange d'irritants en air intérieur.

Le recours à des instruments de mesure en continu et à lecture directe serait intéressant. Au cours de ces dernières années, plusieurs dispositifs de ce type ont été développés et pour certains commercialisés afin de renseigner l'évolution des concentrations en air ambiant. La mise en œuvre de méthodes de mesure visant à caractériser des expositions de courte durée diffère des stratégies habituellement mises en place, notamment dans les campagnes de mesure réalisées dans le cadre de la réglementation française actuelle relative à la surveillance de la qualité de l'air intérieur dans certains établissements recevant du public (ERP). La majorité des niveaux de concentrations documentés dans la présente expertise repose sur des prélèvements réalisés sur plusieurs jours pouvant être répétés sur 2 périodes différentes de l'année.

Les systèmes capteurs ouvrent de nombreuses perspectives dans le domaine de la qualité de l'air, du fait de la miniaturisation et de l'acquisition de résultats de mesures en temps quasi réel. Toutefois, le manque de spécificité des technologies actuelles ne permet pas de les utiliser pour étudier des mélanges de COV.

3.2.5. Mise en perspective

L'objectif de cette mise en perspective est d'identifier les substances qui contribuent le plus à la concentration normalisée (en équivalent formaldéhyde) à partir des données de concentrations dans l'air intérieur suivantes :

- données « brutes » (concentrations de substances disponibles pour chaque échantillon) (Mandin *et al.*, 2009 ; Dassonville *et al.*, 2019, Mandin *et al.*, 2017 ; contribution extérieure laboratoire, 2021) ;
- données « traitées » (disponibilité des concentrations de substances sous la forme de moyenne, médiane, minimum, maximum, percentiles, *etc.* ; sans détail à l'échelle de l'échantillon) (Derbez *et al.*, 2016 ; Jurvelin *et al.*, 2003, Seraphin 2020).

Le Tableau 2 décrit les caractéristiques principales des différentes sources de données exploitées.

Tableau 2 : Informations générales sur les sources de données utilisées pour la mise en perspective

| Type d'EI | Logements | | | Bureaux | | | | | Écoles |
|--|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|---|---|--|----------------------------------|-----------------------|
| Source des données | Jurvelin <i>et al.</i> (2003) | Mandin <i>et al.</i> (2009) | Derbez <i>et al.</i> (2016) | Jurvelin <i>et al.</i> (2003) | Mandin <i>et al.</i> (2017) | Séraphin (2020) | Contribution extérieure laboratoire (2021) | Dassonville <i>et al.</i> (2019) | |
| Zone géographique | Finlande (Helsinki) | France | France | Finlande (Helsinki) | Europe | France (Nouvelle Aquitaine) | France | France | |
| Période | été-automne 1997 | oct 2003 - déc 2005 | 2012 - 2015 | été-automne 1997 | été 2012 | hiver 2012-2013 | oct 2018 -juin 2019 | 2016 - 2021 | juin 2013 - juin 2017 |
| Nombre de données | n = 15 logements | n = 567 logements | n = 72 logements | n = 9 bureaux | n ≈ 140 bureaux (37 immeubles de bureaux) | n ≈ 100 bureaux (30 immeubles de bureaux) | n = 316 bureaux | n = 301 écoles | |
| Méthode de mesure | Prélèvements actifs | Prélèvements passifs | | Prélèvements actifs | Prélèvements passifs | Prélèvements actifs | Prélèvements passifs | Prélèvements passifs | |
| Durée échantillonnage | 48 h | 1 semaine | 1 semaine | 48 h | 5 jours | 6 h | 4,5 jours | 5 jours | |
| Nature des données de concentrations disponibles | Données traitées | Données brutes | Données traitées | Données traitées | Données brutes | Données traitées | Données brutes | Données brutes | |
| Nombre de substances du mélange d'irritants investiguées | 5 | 11 | 13 | 5 | 14 | 17 | 4 | 12 | |

A partir des concentrations dans l'air et des RPF calculés pour les substances du mélange d'irritants (*cf.* Tableau 1), les concentrations équivalentes toxiques en formaldéhyde de l'ensemble des substances mesurées, puis la concentration normalisée du mélange d'irritants (C_m) ont été calculées pour chaque échantillon (*cf.*

Équation 5). Pour chaque échantillon, la contribution de chaque substance du mélange d'irritants au calcul de la C_m a ensuite été évaluée en utilisant l'**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

$$\text{Contribution} = (C_i \times RPF_i) / C_m$$

« C_i » : concentration d'une substance i

« RPF_i » : facteur d'équivalence toxique de la substance i

« C_m » : concentration normalisée du mélange

Équation 6 : Contribution des substances du mélange au calcul de la C_m

La contribution à la Cm de chaque substance mesurée dans un échantillon donné a été calculée. Pour les substances concernées, l'analyse a ensuite porté sur la médiane et le percentile 99 (P99) de la contribution au calcul de la Cm. Dans l'analyse des contributions relatives des substances à la Cm, le P99 permet de prendre en compte des situations « extrêmes » (le pourcentage des concentrations les plus élevées).

Lorsque des données brutes n'étaient pas disponibles, une « contribution indicative moyenne » a, par défaut, été calculée à partir des données de concentrations moyennes des substances en mélange.

Les substances qui contribuent le plus au résultat de calcul de la Cm sont le formaldéhyde (53-99%), l'ozone (21-88%), puis l'acroléine (7-82%). Dans l'ensemble, les substances pour lesquelles le RPF est élevé contribuent régulièrement à plus de 5% au résultat de calcul de la Cm. Il est à noter que le toluène, qui est la substance avec le RPF le plus faible (RPF = 0 0009), peut contribuer à hauteur de 7% au calcul de la Cm.

La Figure 2 présente la répartition des substances selon leur contribution à la Cm calculée à partir du P99 de la contribution réelle et des contributions indicatives moyennes. Les contributeurs majoritaires (> 10%) sont de familles chimiques différentes et il n'est pas possible de déployer une seule méthode permettant de tous les mesurer. Le coût des mesures à effectuer augmente d'abord selon le nombre de prélèvements à mettre en œuvre et ensuite avec le nombre de substances à analyser dans chaque prélèvement.

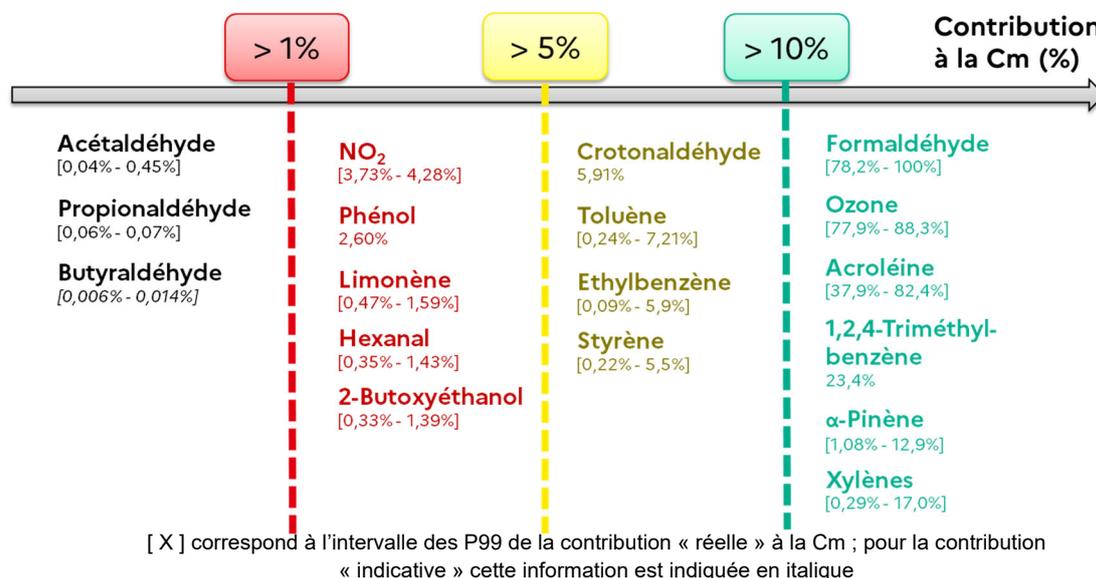


Figure 2 : Répartition des substances du mélange d'irritants selon leur contribution au calcul de la Cm

Plusieurs limites ont été identifiées :

- la représentativité des niveaux de concentrations mesurés : certaines données sont anciennes et, par conséquent, non représentatives des concentrations actuelles qui ont pu évoluer avec la réglementation. Selon les substances, la contribution à la Cm peut donc être sur- ou sous-estimée. À titre d'exemple, l'OQAI a évalué les tendances d'évolution temporelle des concentrations des substances mesurées à la fois dans la

campagne BPE et dans la CNL-1. Les résultats de la CNL-2 permettront d'apporter des précisions complémentaires ;

- l'adéquation des données mesurées avec les effets sanitaires considérés : les mesures sont majoritairement réalisées sur un pas de temps d'une semaine et correspondent à des concentrations moyennées sur la durée du prélèvement, alors que les effets considérés apparaissent pour des expositions aiguës. Cette mesure sur plusieurs jours pourrait sous-estimer les contributions de certaines substances au calcul de la Cm ;
- la disponibilité de données de concentrations : l'analyse de la contribution à la Cm est conditionnée par la disponibilité de données de mesures. Certaines substances telles que le formaldéhyde, l'acétaldéhyde ou le toluène sont fréquemment mesurées alors que d'autres telles que l'ozone ou le crotonaldéhyde le sont rarement. L'absence ou la disponibilité limitée de données peut conduire à une sous-estimation de la contribution à la Cm pour les substances concernées ;
- les difficultés de mesure pour certaines substances : à titre d'exemple, la méthode de mesure par diffusion sur un support imprégné de 2,4-DNPH sous-estime les niveaux de concentrations en acroléine et crotonaldéhyde.

3.2.6. Conclusions du CES AIR sur l'accompagnement métrologique et la mise en perspective

Le CES Air conclut que :

- en l'état actuel des connaissances, le mélange final d'irritants sensoriels constitué dans le cadre de ces travaux regroupe 18 substances fréquemment rencontrées dans l'air des environnements intérieurs ;
- les campagnes de mesure de l'air intérieur en France ont documenté de manière simultanée jusqu'à 17 de ces composés. La contribution des composés à la concentration normalisée du mélange⁵ (Cm) est majoritaire pour le formaldéhyde (52-99%), l'acroléine (7-82%) et l'ozone (21-88%) lorsque ce dernier est mesuré. Dans l'ensemble, les substances pour lesquelles le RPF est élevé (≥ 1) contribuent régulièrement à plus de 5% à la Cm. L'identification des sources et des situations à l'origine de pics d'exposition sont primordiales d'un point de vue sanitaire en vue de protéger des effets irritants ;
- les composés qui contribuent à plus de 10% à la Cm sont de familles chimiques différentes et leur mesure nécessite donc la mise en œuvre de différentes méthodes, en particulier, pour le formaldéhyde et d'autres aldéhydes saturés, ou l'acroléine et d'autres composés hydrocarbures ou terpènes, ou les composés inorganiques (NO₂ et O₃) ;
- la connaissance de la composition des mélanges d'irritants présents dans les environnements intérieurs est amenée à évoluer dans le temps, notamment avec l'évolution des méthodes de mesure.

⁵ Concentration équivalente toxique en formaldéhyde.

3.3. Méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances et application au mélange benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes (BTEX)

3.3.1. Méthode d'élaboration de VTR pour un mélange de substances

Le rapport méthodologique a servi de base pour proposer une méthodologie générale d'élaboration de VTR pour des mélanges de substances ($VTR_{\text{mélange}}$). Un arbre décisionnel schématise la démarche séquentielle proposée (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

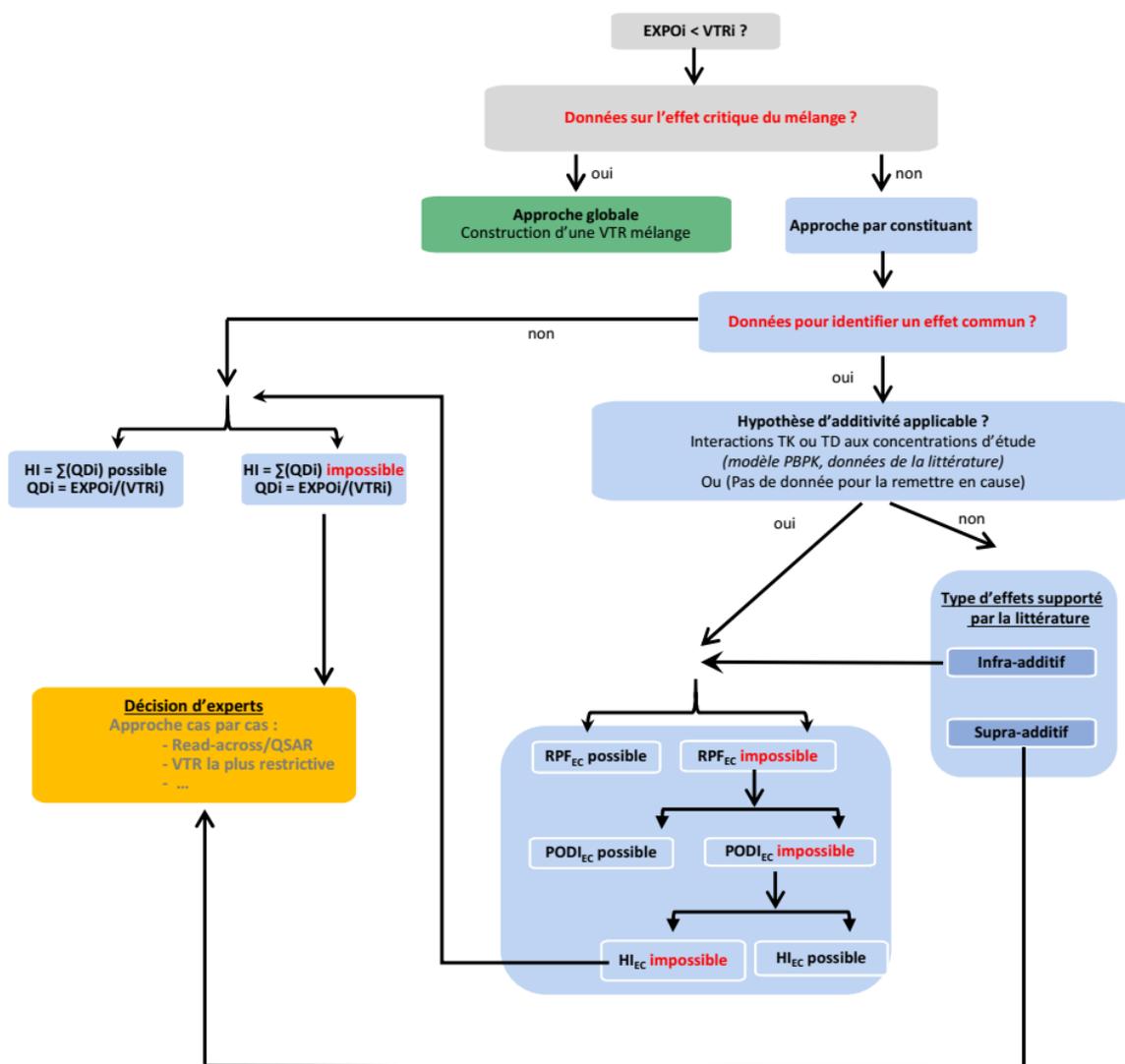


Figure 3 : Arbre décisionnel pour l'élaboration de VTR pour un mélange de substances

Deux approches sont proposées : l'approche globale du mélange et l'approche par constituant du mélange.

L'approche globale revient à considérer le mélange comme une entité chimique unique, similaire à une substance. Ainsi, tous les constituants du mélange contribuant au résultat de l'évaluation et leurs éventuelles interactions sont pris en compte. L'approche globale est généralement limitée à des évaluations portant sur une exposition directe au mélange, par une seule voie d'exposition (OCDE, 2018 ; EFSA, 2019). La recherche dans la littérature consiste alors en la collecte des données disponibles sur le mélange lui-même.

Contrairement à l'approche globale, l'approche par constituant ne permet pas d'établir une $VTR_{\text{mélange}}$ mais permet d'appliquer des modèles d'évaluation des risques cumulés résultant de l'exposition combinée aux substances présentes dans le mélange considéré (HI, PODI, RPF/TEF) (cf. §3.1). Sur la base des données collectées sur chaque constituant du mélange, il convient d'identifier tous les effets néfastes communs à l'ensemble des substances et de sélectionner l'effet critique commun aux constituants du mélange et survenant aux doses ou concentrations les plus faibles.

Si la revue de la littérature permet d'identifier des données toxicocinétiques (TK) et/ou toxicodynamiques (TD) aux concentrations considérées, il convient d'évaluer si ces données mettent en évidence une interaction différente de l'additivité (interactions négatives, antagonisme/effet infra-additif ou positives, synergie/effet supra-additif) ou au contraire si elles permettent d'étayer un effet additif des différents constituants. Si l'hypothèse d'additivité est applicable, en fonction des données disponibles pour l'effet commun considéré, les modèles suivants sont préconisés par ordre de préférence :

- facteur de puissance relative pour l'effet commun considéré (RPF_{EC}),
- *Point of Departure Index* pour l'effet commun considéré ($PoDI_{EC}$),
- *Hazard Index* pour l'effet commun considéré (HI_{EC}) avec élaboration de valeurs toxicologiques fondées sur l'effet commun considéré pour les différents constituants du mélange (VTM_{EC}).

Si les données disponibles ne permettent pas de mettre en œuvre les 3 modèles précités, alors le modèle HI est mis en œuvre dès lors qu'on dispose de VTR pour chacun des constituants du mélange. Enfin, une approche au cas par cas, fondée sur une décision d'experts, est envisagée en l'absence de VTR ou si les données permettent de suspecter une interaction synergique ou mettent en évidence un effet supra-additif du mélange.

3.3.2.Élaboration d'une valeur toxicologique pour le mélange BTEX

Concernant le mélange BTEX, la collecte des informations nécessaires à la réalisation de cette expertise a été effectuée sur la base des rapports existants au niveau international sur le mélange BTEX (ATDSR, 2004) complété par une recherche bibliographique sur les bases de données Pubmed et Scopus entre 2004 et 2021. Concernant les différents constituants du mélange BTEX, la collecte des informations a été réalisée sur la base des rapports existants publiés par l'Anses (Anses, 2014, 2016b, 2017, 2020), des rapports institutionnels complétés par une recherche bibliographique jusqu'en septembre 2021 sur Pubmed et Scopus pour le toluène et l'éthylbenzène.

Au regard du manque de données sur le mélange BTEX appropriées à l'élaboration d'une VTR_{BTEX} , une approche globale n'a pas pu être mise en œuvre. Une approche par constituant a donc été suivie, en retenant la neurotoxicité comme effet commun. Pour une exposition chronique par inhalation, sur la base des données humaines et animales disponibles, le système nerveux central (SNC) s'avère le principal organe cible commun des BTEX. Sur la base de modélisation PBPK et de données toxicologiques, l'hypothèse d'additivité n'a pas été remise en cause. Au regard des données disponibles, des facteurs de puissance relative (RPF) ou des $PoDI$ n'ont pas pu être établis pour les effets neurotoxiques. Le modèle $HI_{\text{neurotoxicité}}$ a été sélectionné. Des valeurs toxicologiques dédiées à la neurotoxicité ont été élaborées pour les constituants du mélange BTEX ($VTR_{\text{neurotoxicité}}$).

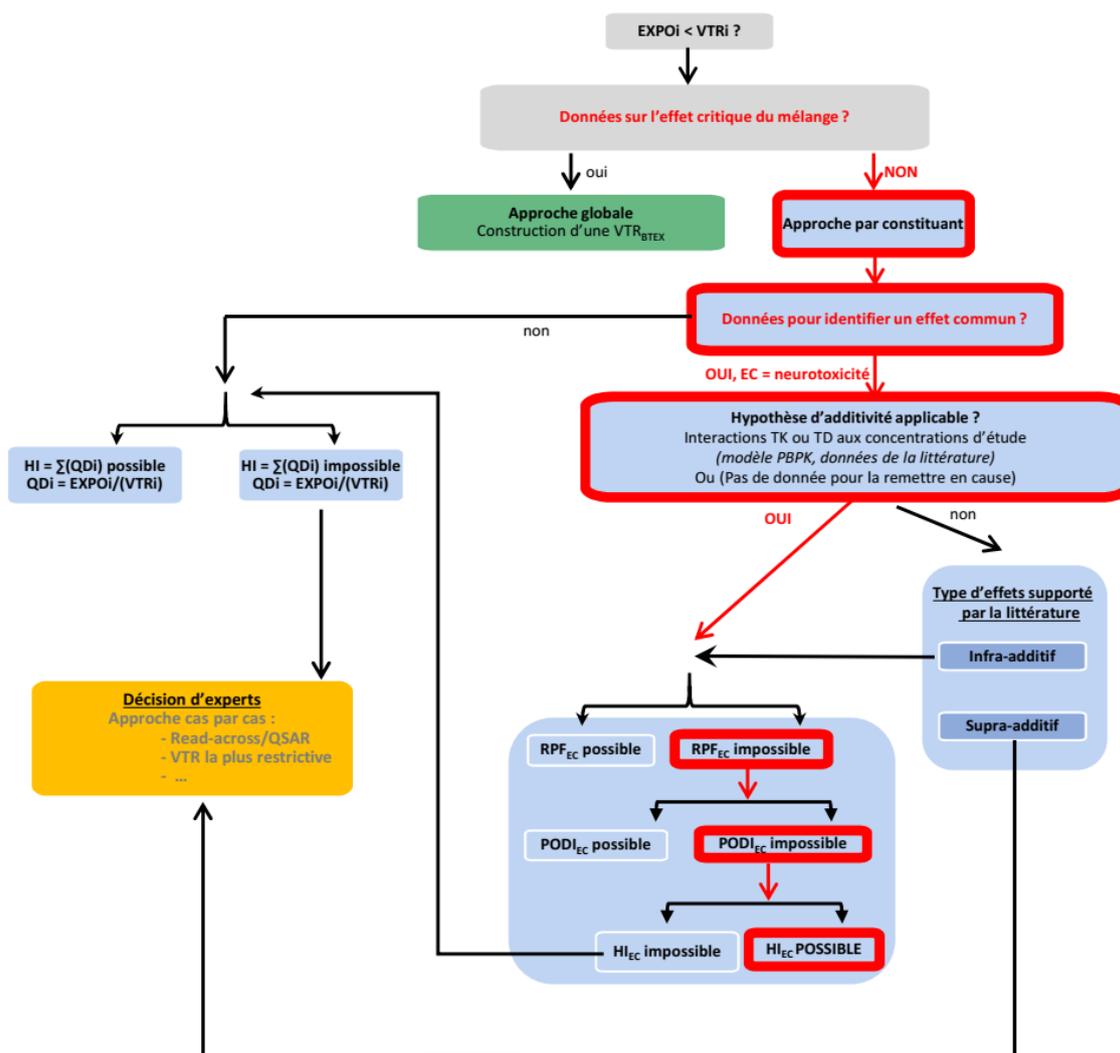


Figure 4 : Arbre décisionnel appliqué au mélange BTEX

• **Élaboration d'une VTM pour la neurotoxicité**

Pour une exposition chronique par inhalation, la neurotoxicité est l'effet commun le plus manifeste. Cependant, si les troubles de la coordination (effet critique de la VTR xylènes) et de la vision (effet critique de la VTR toluène) sont des proxys de l'atteinte du SNC par les solvants organiques dont les BTEX, l'ototoxicité (effet critique de la VTR éthylbenzène) n'est en revanche pas commune à tous les BTEX dépendant d'un mode d'action en lien avec leur encombrement stérique. Les VTR du toluène et des xylènes étant toutes les deux fondées sur la neurotoxicité, elles peuvent être utilisées pour évaluer les risques du mélange BTEX pour cet effet commun. Elles sont ainsi égales aux valeurs toxicologiques pour l'effet neurotoxique commun ($VTM_{neurotoxicité}$). Des $VTM_{neurotoxicité}$ ont donc été élaborées pour les 2 autres constituants du mélange dont la VTR n'est pas fondée sur un effet neurotoxique (benzène et éthylbenzène).

En l'absence d'études par inhalation suffisamment robustes, les données de toxicité subchronique et chronique par voie orale disponibles pouvant indiquer des effets neurotoxiques ont été considérées afin de construire, après une transposition voie à voie, une

VTM_{neurotoxicité} chronique par inhalation. Les VTM_{neurotoxicité} sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : VTM_{neurotoxicité} par voie respiratoire

| Constituants du mélange | Organisme | Effet critique (étude clé) | PoD | UF | VTM _{neurotoxicité} |
|-------------------------|---------------|---|---|--|--|
| Benzène en mélange | Anses (2022) | Effets neurologiques (diminution de la coordination et de l'activité motrice) Rafati <i>et al.</i> , 2015 : étude de 28 jours chez le rat par gavage | LOAEL _{neurotoxicité} = 200 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique:</u> LOAEL _{HED-neurotoxicité} = 46,2 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ VTM _{neurotoxicité} orale = 18,5 µg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Transposition voie à voie</u> VTM _{neurotoxicité-respiratoire} = VTM _{neurotoxicité-orale} x 70kg/20m ³ .j ⁻¹ | 2500 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 10 UF _{B/L} = 10 UF _D = 1 | VTM_{neurotoxicité} = 0,065 mg.m⁻³ (0,02 ppm) |
| Toluène | Anses (2017) | Effets neurologiques (troubles de la vision des couleurs) Zavalic <i>et al.</i> , 1998 : étude épidémiologique chez des travailleurs | NOAEC = 123 mg.m ⁻³ (32 ppm) <u>Ajustement temporel</u> (utilisation d'un modèle PBPK ; équivalence de dose ajustée sur la vie entière) : NOAEC _{ADJ} = 96 mg.m ⁻³ (25 ppm) | 5 UF _H = 5 | VTM_{neurotoxicité} = VTR = 19 mg.m⁻³ (5 ppm) |
| Éthylbenzène en mélange | Anses (2022) | Effets neurologiques (test de motricité) Li <i>et al.</i> , 2010 : étude de 90 jours chez le rats par gavage | NOAEL _{neurotoxicité} = 500 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEL _{HED-neurotoxicité} = 500 x (0,339/70) ^{0,25} = 131 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ = 131 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ VTM _{neurotoxicité} orale = 1,74 mg.kg p.c ⁻¹ .j ⁻¹ <u>Transposition voie à voie</u> VTM _{neurotoxicité-respiratoire} = VTM _{neurotoxicité-orale} x 70kg/20m ³ .j ⁻¹ | 75 UF _{A-TD} = 2,5 UF _H = 10 UF _S = 3 | VTM_{neurotoxicité} = 6 mg.m⁻³ (1,4 ppm) |
| Xylènes | US EPA (2003) | Effets neurologiques (altération de la coordination motrice - test du rotarod) Korsak <i>et al.</i> , 1994 : étude de 90 jours chez le rat par inhalation corps entier, 6h/j, 5j/sem | NOAEC = 217 mg.m ⁻³ (50 ppm) <u>Ajustement temporel</u> NOAEC _{ADJ} = 38,75 mg.m ⁻³ <u>Ajustement allométrique</u> NOAEC _{HEC} = 38,75 mg.m ⁻³ | 300 UF _{A-TD} = 3 UF _H = 10 UF _S = 3 UF _D = 3 | VTM_{neurotoxicité} = VTR = 0,1 mg.m⁻³ (0,03 ppm) |

Les valeurs à appliquer pour évaluer les risques pour les constituants du mélange BTEX couvrent une large gamme de concentrations. Celle-ci ne traduit pas nécessairement une différence de puissance relative entre les différents constituants pour les effets neurotoxiques mais résulte de la disparité des données disponibles et de la méthodologie d'élaboration de VTR. En effet, la valeur la plus élevée est celle du toluène car celle-ci est établie sur la base d'un corpus de données chez l'Homme conséquent : facteur d'incertitude global de 5 et niveau de confiance fort. A l'inverse pour le benzène, la VTM_{neurotoxicité} est fondée sur une seule étude de 28 jours par voie orale chez le rat avec une seule dose testée : facteur d'incertitude de 2500. Pour une approche plus robuste, la génération de données permettant d'établir des PoD ou des RPF pour la neurotoxicité semble nécessaire, le toluène pouvant servir de composé de référence du mélange.

3.4. Recommandations du CES VSR

Le CES VSR émet plusieurs recommandations :

- l'élaboration de VTM ou de RPF est à envisager pour les mélanges fréquemment rencontrés dans l'environnement (atmosphère de travail, eau, air intérieur, air ambiant, etc.) mais pas de manière systématique. Elle est réalisable si toutes les substances du mélange partagent un effet sanitaire commun. Le HI spécifique sur l'effet commun est à utiliser lorsque le HI générique est égal ou supérieur à 1 ;
- les approches méthodologiques proposées mériteraient d'être complétées par des approches expérimentales afin de tester leur validité ;
- pour les irritants, l'élaboration d'une base de données accessible à tous et régulièrement mise à jour qui recenserait les RD50 disponibles pour les substances fréquemment rencontrées dans l'environnement est recommandée.

3.5. Recommandations du CES Air

Le CES Air alerte sur le fait que les données de concentration actuellement disponibles ne permettent pas de caractériser les pics ni d'identifier les sources d'exposition au mélange d'irritants. Dans le but de caractériser le risque d'irritation lié à l'exposition à ce mélange, il est nécessaire de définir et de mettre en œuvre une stratégie d'échantillonnage qui permette d'identifier les pics d'exposition et de documenter les variations spatio-temporelles des concentrations des composés de ce mélange et leurs déterminants dans les espaces clos.

En termes de recherche et développement, le CES Air recommande :

- de poursuivre le développement et la validation des instruments pour mesurer en continu et de manière spécifique les différents composés du mélange d'irritants. Ces dispositifs de mesure sont particulièrement intéressants pour aider à l'identification des sources. Le développement et la validation de systèmes capteurs sensibles et spécifiques pour la mesure des composés du mélange, seuls ou de manière simultanée serait utile dans ce cadre.

En termes d'évaluation des risques, le CES Air recommande :

- d'utiliser la démarche « VGAI pour un mélange d'irritants » et la liste de substances irritantes associée dans le cadre d'investigations pour plaintes en lien avec des symptômes irritatifs, en complément des démarches habituellement mises en œuvre ;
- de réaliser une veille sur les effets irritants des substances fréquemment rencontrées dans les environnements intérieurs dans le but d'actualiser la liste des composés.

Enfin, le CES Air souligne l'intérêt de prendre en compte les substances irritantes du mélange lors de la réalisation de campagnes de mesure de la qualité de l'air intérieur.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Si la prise en compte de l'exposition réelle de la population reste complexe, la question de l'exposition à des mélanges de substances chimiques au quotidien, que ce soit dans la sphère

privée ou dans le cadre d'activités professionnelles, fait déjà l'objet de travaux de recherche ou d'expertise à l'Agence. Le présent avis s'inscrit dans les missions pérennes d'expertise de l'Anses concernant l'élaboration de valeurs de référence, lesquelles visent à protéger la santé des populations.

L'Agence endosse des conclusions et recommandations présentées ci-dessus et en souligne l'importance. Ces travaux d'expertise fournissent des outils opérationnels afin d'évaluer les risques liés à l'exposition à des mélanges de substances, et plus précisément les risques d'irritation sensorielle d'un mélange de substances (aldéhydes, hydrocarbures aromatiques, phénols, éthers de glycol, composés inorganiques, terpènes) fréquemment retrouvées dans les environnements intérieurs et les risques d'effets neurologiques d'un mélange de 4 hydrocarbures aromatiques. L'Anses souligne que la vérification du respect de la valeur pour le mélange doit toujours être associée à celle du respect des VTR ou VGAI de chacun des composants du mélange, la valeur pour le mélange n'étant pas toujours fondée sur l'effet critique de la substance mais sur un effet sanitaire commun identifié pour l'ensemble des composants du mélange.

En complément, les enseignements issus de ces travaux ont vocation à alimenter les réflexions méthodologiques menées à l'Anses sur la thématique des mélanges, notamment dans le cadre de la révision du guide pour l'élaboration et le choix de valeurs de référence. Ils s'inscrivent également dans des travaux méthodologiques plus larges de l'Agence sur les différentes composantes de l'exposome⁶ dans la perspective d'intégrer progressivement dans les expertises la prise en compte des expositions multi-sources, multi-voies et multi-substances.

Enfin, dans le cadre du partenariat européen pour l'évaluation des risques liés aux substances chimiques (PARC), l'Agence souligne l'opportunité d'initier des projets de recherches innovants afin d'améliorer la production de connaissances sur les mélanges de substances et de proposer de nouvelles méthodes et outils pour l'évaluation des risques des substances chimiques dans le but de protéger la santé.

Dr Roger Genet

⁶ L'Anses propose la définition de l'exposome suivante : « L'exposome correspond à la totalité des expositions néfastes comme bénéfiques à des agents chimiques, biologiques, et physiques, en interaction avec le milieu de vie et le contexte psycho-social, que connaît un organisme vivant de sa conception à sa fin de vie, complétant l'effet du génome afin d'expliquer son état de santé ».

MOTS-CLÉS

Mélange, risque cumulé, méthodes, valeur guide, VGAI, VTR, valeur toxicologique de référence, indoor, irritants, aldéhydes, hydrocarbures aromatiques, terpènes, composés inorganiques, BTEX, formaldéhyde, acroléine, ozone, benzène

Mixture, cumulative risk, methods, guideline value, IAQG, TRV, toxicological reference value, indoor, irritative compounds, aldehydes, aromatic hydrocarbons, terpenes, inorganic compounds, BTEX, formaldehyde, acrolein, ozone, benzene

BIBLIOGRAPHIE

- Anses. (2014). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Valeur toxicologique de référence par voie respiratoire pour le benzène. Maisons-Alfort, 106 p.
- Anses (2016a) Proposition de valeurs guides de qualité d'air intérieur. Méthode d'élaboration de valeurs guides de qualité d'air intérieur. Avis de l'Anses et rapport d'expertise collective. Seconde édition - mise à jour en 2016. Maisons-Alfort, 90 p.
- Anses. (2016b). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Élaboration de VTR aiguë et chronique par voie respiratoire pour l'éthylbenzène. Maisons-Alfort, 118 p.
- Anses. (2017). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Elaboration de VTR aiguë et chronique par voie respiratoire pour le toluène (CAS n°108-88-3). Anses, Maisons-Alfort, 62 p.
- Anses. (2018). Mise à jour de valeurs guides de qualité d'air intérieur – Le formaldéhyde. Février 2018 ; Edition scientifique. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Maisons-Alfort. 214 p.
- Anses. (2020). Valeurs toxicologiques de référence (VTR). Les xylènes. Maisons-Alfort, 130 p.
- ATSDR. (2004). Interaction Profile for Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylenes (BTEX). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Public Health Service, Atlanta, GA, pp. 1–154. <https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/ip-btex/ip05.pdf>
- ATSDR. (2007). Toxicological profile for xylene. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. August 2007. Atlanta, Georgie. 496 p <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp71.pdf>
- Dassonville C., *et al.* (2019) Indoor air quality in French schools: results from a nationwide survey. Rapport. 18p.
- Derbez M., *et al.* (2016). Base de référence nationale sur la qualité de l'air intérieur et le confort des occupants de bâtiments performants en énergie – Deuxième état descriptif de la qualité de l'air intérieur et du confort de bâtiments d'habitation performants en énergie, CSTB-OQAI/2016-010, Février 2016, 100 p.
- EFSA. (2013). Scientific Opinion on the identification of pesticides to be included in cumulative assessment groups on the basis of their toxicological profile. EFSA Journal 11 (7):3293.

- EFSA. (2019). Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. EFSA Journal 2019;17(3):5634.
- INRS (2018) FICHE TOXICOLOGIQUE FT 0 À propos des fiches toxicologiques. Disponible en ligne : <https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox.html> . 26 p.
- Jurvelin JA., *et al.* (2003). Residential indoor, outdoor, and workplace concentrations of carbonyl compounds: relationships with personal exposure concentrations and correlation with sources. J Air Waste Manag Assoc. 2003 May;53(5):560-73.
- Kortenkamp A., Backhaus T., Faust M. (2009). State of the art report on mixture toxicity. European Commission. 391 p.
- Mandin C., *et al.* (2009) Campagne nationale « Logements » de l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur : de la description de la pollution intérieure à sa compréhension. Pollution atmosphérique N° 204 - Octobre-décembre 2009.
- Mandin C., *et al.* (2017). Assessment of indoor air quality in office buildings across Europe - The OFFICAIR study. Sci Total Environ. 2017 Feb 1;579:169-178.
- OCDE. (2018). Guidance document on inhalation toxicity studies Series on Testing and Assessment No. 39 (Second Edition). 106 p.
- SCHER, SCENIHR, SCCS. (2011). Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures. Brussels: Scientific Committee on Health and Environmental Risks, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, Scientific Committee on Consumer Safety.
- Séraphin G. (2020). Stratégies optimales de maîtrise de la qualité de l'air dans les bureaux : évaluation du potentiel des matériaux adsorbants. Manuscrit de thèse - discipline : énergétique et thermique. Université de La Rochelle. 206p.
- US EPA. (2003). Toxicological review of xylenes. In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). Washington D.C., USA. 113 p.
- US EPA. (2008) Concepts, Methods, and Data Sources For Cumulative Health Risk Assessment of Multiple Chemicals, Exposures and Effects: A Resource Document (Final Report, 2008). US Environmental Protection Agency, Washington. 412p. https://cfpub.epa.gov/si/si_public_file_download.cfm?p_download_id=474337&Lab=NCEA

CITATION SUGGÉRÉE

Anses. (2022). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'élaboration de valeurs de référence pour des mélanges de substances : état des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges, application aux valeurs guides de qualité d'air intérieur (VGAi) et aux valeurs toxicologiques de référence (VTR). (saisine 2018-SA-0152). Maisons-Alfort : Anses, 26 p.

ANNEXE 1 : TABLEAU : DESCRIPTION DES PRINCIPAUX ADSORBANTS UTILISÉS POUR LA MESURE DANS L'AIR DES SUBSTANCES DU MÉLANGE D'IRRITANTS

| Adsorbant | Composition | Pouvoir adsorbant | Température de désorption | Exemples de composés | | | |
|----------------------------|---|---|---|--|--|------------|--|
| Tenax TA | Poly(2,6-diphényl-p-phénylene oxyde) | Faible | 350°C | Hydrocarbures aromatiques sauf benzène, composés non polaires (Teb >100°C) et composés polaires peu volatils (Teb >150 °C) n-C ₇ -nC ₂₆ : Teb 100-400°C | | | |
| Tenax GR | Poly(2,6-diphényl-p-phénylene oxyde) + 23% charbon graphitisé | Faible | 350°C | Mêmes composés que le Tenax TA + Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polychlorobiphényles (PCB) et alkylbenzène n-C ₇ -nC ₃₀ : Teb 100-450°C | | | |
| Chromosorb 106 | Styrène-divinylbenzène copolymère | Moyen | 225-250°C | Grande variété de COV dont composés volatils oxygénés n-C ₅ -nC ₁₂ : Teb 50-200°C | | | |
| Chromosorb 102 | Polystyrène | Moyen | 250°C | Mêmes composés que pour le Chromosorb 106 + hydrocarbures halogénés (moins volatils que le chlorure de méthyle) Teb 50-200°C | | | |
| Porapak N | Polyvinylpyrrolidone | Moyen | 180-190°C | Spécifique aux composés volatils nitriliques, pyridine et alcools volatils et méthyl éthyl cétone (MEK)- acétylène et hydrocarbures aliphatiques n-C ₅ -nC ₈ : Teb 50-150°C | | | |
| Porapak Q | Ethylvinylbenzène-divinylbenzène copolymère | Moyen | 250°C | Grande variété de COV, dont composés oxygénés n-C ₅ -nC ₁₂ : Teb 50-200°C | | | |
| Carbotrap C Carbopack C | noirs de carbone graphitisés (surface variable) | Très faible | >400°C | Hydrocarbures et alkylbenzènes – Cétones, alcools et aldéhydes n-C ₈ -nC ₂₀ | | | |
| Carbograph 2 TD | | | | Grande variété de COV dont cétones, alcools, aldéhydes, composés polaires volatils, perfluorés n-C _{5/6} -nC ₁₄ | | | |
| Carbotrap Carbopack B | | | | | | | |
| Carbograph 1 TD | | | | | | | |
| Carbopack X | | | | Moyen | hydrocarbures dont BTEX n-C _{5/6} -nC ₈ | | |
| Carbograph 5 TD | | | | Moyen | hydrocarbures dont BTEX n-C ₅ -nC ₈ | | |
| Spherocarb, Unicarb | | | | Produit de pyrolyse de polymères organiques | Fort | 350-400 °C | Composés très volatils et polaires n-C ₃ -nC ₈ : Teb (-60)-80°C |
| Carbosieve SIII | | | | | Très fort | | Composés très volatils n-C ₂ -nC ₅ : Teb (-30)-150°C |
| Carboxen 1000 | Très fort | Hydrocarbures très volatils C ₂ -C ₃ | | | | | |
| Molecular Sieve 5A | Très fort | Protoxyde d'azote | | | | | |
| Molecular Sieve 13X | Très fort | 1,3-butadiène | | | | | |
| Charbon actif | | Très fort | 400°C Rarement utilisé en thermodésorption, à utiliser avec précaution | Composés très volatils n-C ₂ -nC ₄ : Teb (-80)-50°C | | | |

Etat des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges

Réflexion pour l'élaboration de valeurs de référence

**Autosaisine « 2016-SA-0101 – VGAI Mélange »
Saisine « 2018-SA-0152 – VTR BTEX »**

RAPPORT d'expertise collective

**« Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de
référence »**

« Evaluation des risques liés aux milieux aériens »

« Valeurs sanitaires de référence »

Mars 2022

Citation suggérée

Anses. (2021). Etat des connaissances sur les approches existantes pour la prise en compte des mélanges. Réflexion pour l'élaboration de valeurs de référence. (saisine 2016-SA-0101 et 2018-SA-0152). Maisons-Alfort : Anses, 104 p.

Mots clés

Français : Mélange, risque cumulé, méthodes, valeur guide, VGAI, VTR, valeur toxicologique de référence, indoor, irritants, aldéhydes, hydrocarbures aromatiques, terpènes, composés inorganiques, BTEX, formaldéhyde, acroléine, ozone, benzène,

Anglais : Mixture, cumulative risk, methods, guideline value, IAQG, TRV, toxicological reference value, indoor, irritative compounds, aldehydes, aromatic hydrocarbons, terpenes, inorganic compounds, BTEX, formaldehyde, acrolein, ozone, benzene

Présentation des intervenants

PRÉAMBULE : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

RAPPORTEURS (2016-2018)

Mme Nathalie BONVALLOT – Enseignant chercheur (EHESP) – Spécialités : toxicologie, évaluation des risques sanitaires.

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève – Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

■ Evaluation des risques liés aux milieux aériens (2014-2017) – 17 décembre 2015 et 11 mai 2017

Président

M. Christophe PARIS – Professeur des universités, praticien hospitalier (Université de Lorraine EA7298 INGRES, – Centre hospitalier universitaire CHU Nancy). Spécialités : épidémiologie des risques professionnels, pathologies professionnelles

Vice-Présidente

Mme Séverine KIRCHNER – Directrice adjointe de la Direction santé confort (CSTB), coordinatrice de l'OQAI – Spécialités : chimie et pollution de l'atmosphère, air intérieur, expologie

Membres

M. Gille AYMOZ – Chef de service qualité de l'air (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie - ADEME) - Spécialités : physico-chimie de l'atmosphère, rejets atmosphériques. (Démission le 24 mars 2016).

Mme Armelle BAEZA – Professeur des universités (Université Paris Diderot) – Spécialité : toxicologie.

M. Claude BEAUBESTRE – Chef de département (Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris - LHVP) - Spécialités : pollution de l'air intérieur, microbiologie.

M. Olivier BLANCHARD – Enseignant chercheur (Ecole des hautes études en santé publique - EHESP) – Spécialités : évaluation des risques sanitaires, pollution atmosphérique, qualité de l'air intérieur.

Mme Nathalie BONVALLOT – Enseignant chercheur (EHESP) – Spécialités : toxicologie, évaluation des risques sanitaires.

M. Patrick BROCHARD – Professeur des universités, praticien hospitalier (Université Bordeaux II – Centre hospitalier universitaire CHU Bordeaux) – Spécialités : médecine du travail, évaluation des risques sanitaires, agents polluants. (Démission le 15 novembre 2016)

M. Denis CHARPIN – Professeur des universités, praticien hospitalier (Aix Marseille Université) – Spécialités : médecine, agents polluants *et* allergènes, épidémiologie des risques liés à l'environnement.

M. Jean-Dominique DEWITTE - Professeur des universités, praticien hospitalier (Université de Brest) – Spécialités : Santé travail, pneumologie.

Mme Emilie FREALLE – Praticien hospitalier (Centre hospitalier régional universitaire CHRU Lille) – Spécialités : Ecologie microbienne de l'air, microbiologie analytique, évaluation et prévention du risque microbiologique, surveillance de l'environnement intérieur.

M. Philippe GLORENNEC – Enseignant chercheur (EHESP – Institut de recherche sur la santé, l'environnement et le travail, UMR Inserm 1085) – Spécialités : expologie, évaluation des risques sanitaires.

M. Eddy LANGLOIS – Ingénieur, responsable de laboratoire (INRS) – Spécialités : métrologie des polluants, air des lieux de travail (santé travail), surveillance et méthodes d'analyse.

Mme Danièle LUCE – Directrice de recherche (Institut national de la santé et de la recherche médicale - Inserm) – Spécialités : Epidémiologie, santé travail.

Mme Christelle MONTEIL – Enseignant-chercheur (Université de Rouen) – Spécialités : toxicologie.

Mme Anne OPPLIGER – Chef de projets (IST) – Spécialités : Santé travail, bioaérosols.

M. Loïc PAILLAT – Ingénieur, responsable technique (LCP) – Spécialités : métrologie des polluants, air intérieur, air ambiant et air des lieux de travail.

Mme Mathilde PASCAL – Chargée de projets (InVS) – Spécialités : épidémiologie, santé environnement, air et climat. (Démission le 2 janvier 2017).

M. Emmanuel RIVIERE – Directeur adjoint (ASPA) – Spécialités : Méthode d'analyse et de surveillance, modélisation des émissions, évaluation de l'exposition.

Mme Sandrine ROUSSEL – Ingénieur hospitalier (Centre hospitalier régional universitaire CHRU Besançon) – Spécialités : microbiologie, pathologies respiratoires *et* allergiques, microorganisme de l'environnement.

M. Rémy SLAMA – Directeur de recherche (Inserm) – Epidémiologie environnementale, reproduction et fertilité, santé des enfants, milieux aériens et environnement, perturbateurs endocriniens

■ **CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence » (2014-2017) – le 9 avril 2015 et 8 décembre 2016**

Président

M. Michel GUERBET – Professeur de toxicologie à l'UFR médecine pharmacie de Rouen - Pharmacien toxicologue

Vice-président

M. Dominique LAFON – Médecin toxicologue chez Nexter Group – Médecine du travail, toxicologie, reprotoxicité

Membres

M. Marc BARIL - Professeur associé à l'Université de Montréal – Chimiste toxicologue, VLEP

M. Sylvain BILLET – Enseignant chercheur / maître de conférence en toxicologie à l'Université du Littoral Côte d'Opale – Toxicologie respiratoire, nanomatériaux

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Pharmacien toxicologue, toxicologie générale - VTR

Mme Anne CHEVALIER – Epidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire

M. François CLINARD – Epidémiologiste à l'Institut de Veille Sanitaire – Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies de IARC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Docteur es science en biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à l'Institut de Veille sanitaire – Docteur es science en biochimie, toxicologie, VLEP

M. Claude EMOND – Professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal – Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Guillaume GARCON – Professeur de toxicologie à l'Université de Lille 2 – Toxicologie générale, cancérologie, modèles expérimentaux, toxicologie respiratoire, pollution atmosphérique

M. Ludovic LE HEGARAT – Chef d'unité adjoint Toxicologie des contaminants - Anses – Laboratoire de Fougères- Toxicologie, génotoxicité, nanomatériaux

M. Karim MAGHNI – Professeur sous octroi agrégé à l'Université de Montréal – Toxicologie, immunologie, asthme, allergies, nanomatériaux. (Démission en mars 2016).

Mme Véronique MALARD – Ingénieur chercheur en toxicologie au Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives, Centre de Marcoule. – Toxicologie « in vitro », biologie cellulaire, nanotoxicologie, protéomique.

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail 19

M. Jean-Paul PAYAN – Chef du laboratoire Pénétration Cutanée, Cinétique et Métabolisme à l'INRS, Nancy – Pharmacien toxicologue, toxicocinétique

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste - Neurotoxicité, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

M. Alain SIMONNARD – Chef de département à l'INRS, Nancy - Pharmacien toxicologue, toxicologie générale et reprotoxicité, anatomopathologie

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève – Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

Mme Lydie SPARFEL – Professeur à l'Université de Rennes 1 / IRSET 'Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail' UMR INSERM 1085– Pharmacien Toxicologue, immunotoxicologie, toxicogénomique, cancérologie, biologie cellulaire et moléculaire

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS – Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

■ CES « Valeurs sanitaires de référence » - (2017-2020) – 24 novembre 2017, 3 mai 2018 et 22 octobre 2020**Président**

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail en Corrèze

Vice-Président

M. Raymond VINCENT - Retraité (anciennement Chargé de mission à la Direction Déléguée aux Applications (INRS)) - Compétences : chimie, métrologie des polluants, évaluation des risques professionnels

Membres

M. Marc BARIL – Professeur associé à l'Université de Montréal – Compétences : Chimiste toxicologue, hygiène industrielle

M. Stéphane BINET – Pharmacien toxicologue à la direction scientifique à l'INRS – Compétences : toxicologie générale et industrielle

Mme Michèle BISSON – Responsable d'étude à l'INERIS – Compétences : Pharmacien toxicologue, toxicologie générale

Mme Anne CHEVALIER – Epidémiologiste retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire -Compétences : épidémiologie

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies du CIRC (IMO) Centre International de Recherche sur le Cancer - Compétences : Docteur es science en biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

Mme Mounia EL-YAMANI – Responsable d'unité à Santé publique France (anciennement Institut de Veille sanitaire) – Compétences : Docteur es science en biochimie, toxicologie. (Démission en juin 2019)

M. Claude EMOND – Professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal – Compétences : Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Rex FITZGERALD – Expert en toxicologie réglementaire au Centre Suisse de Toxicologie Humaine Appliquée - Compétences : toxicologie de la reproduction, neurotoxicité du développement, évaluation des risques humains

M. Robert GARNIER – Médecin toxicologue, Centre antipoison de Paris - Compétences : Toxicologie médicale – Médecine du travail

Mme Perrine HOET – Professeur à l'Université Catholique de Louvain. IREC – Compétences : médecine, toxicologie industrielle et environnementale

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste à Santé publique France (anciennement Institut de Veille sanitaire) – Compétences : épidémiologie des risques professionnels

Mme Cécile KAIRO – Évaluateur de risques sanitaires - (anciennement Institut de Veille sanitaire) Compétences : Docteur en pharmacie spécialisé en environnement, toxicologie générale et évaluation des risques

Mme Laila LAKHAL – Ingénieur INRA unité Toxalim - Compétences : Toxicologie, métabolisme, perturbateurs endocriniens

M. Frédéric LIRUSSI – Maître de Conférences des Universités– Praticien Hospitalier (MCU-PH) à l'UFR des Sciences de Santé & CHU de Dijon - Compétences : Toxicologie Clinique, Toxicologie analytique, Immunité Innée, Reprotoxicité

Mme Anne MAITRE – Professeur des Universités – Praticien Hospitalier (PU-PH) au Laboratoire de Toxicologie Professionnelle et Environnementale, CHU de Grenoble ; Responsable de l'équipe « Environnement et prédiction de la santé des populations », Laboratoire TIMC, Université Grenoble Alpes – Compétences : médecine, toxicologie, IBE, métrologie des polluants, hygiène industrielle

Mme Florence PILLIERE – Conseiller médical en toxicologie à l'INRS – Compétences : médecine du travail, toxicologie, IBE. (Décédée en mars 2019).

Mme Anne PLATEL – Maître de conférences à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille – Laboratoire de Toxicologie Génétique, Institut Pasteur de Lille - Compétences : Toxicologie, Génotoxicité, QSAR

M. Henri SCHROEDER – Enseignant chercheur à l'URAFPA, INRA USC 340, Faculté des Sciences et Technologies, Université de Lorraine - Pharmacien biologiste - Compétences : Neurotoxicité, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève - Compétences : Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

M. Jérôme THIREAU – Chargé de recherche au CNRS - Compétences : Docteur es science, physiologie animale, biologie cellulaire, cardiotoxicité

M. Claude VIAU – Professeur associé à l'université de Montréal – Compétences : Toxicologie, IBE, hygiène industrielle, métrologie des polluants. (Démission en juillet 2020)

■ **CES « Evaluation des risques liés aux milieux aériens » – (2017-2020) – le 15 décembre 2017, le 6 avril, 23 novembre 2018 et 8 octobre 2020**

Présidente

Mme Rachel NADIF – Chargée de Recherche (INSERM – Directrice adjointe UMR-S 1168) – Spécialité : épidémiologie, santé respiratoire.

Vice-président

M. Christophe PARIS – Professeur des universités, praticien hospitalier (Université de Rennes 1 - Inserm U1085 IRSET – Centre hospitalier universitaire de Rennes). Spécialités : épidémiologie des risques professionnels, pathologies professionnelles, santé au travail.

Membres

Mme Sophie ACHARD – Enseignant chercheur, maître de conférence (Université Paris Descartes) – Spécialité : toxicologie environnementale.

Mme Christina ASCHAN-LEYGONIE – Enseignant-chercheur (Université Lumière Lyon 2 - UMR 5600 Environnement Ville Société - EVS) - Spécialités : géographie, milieux urbains, inégalités de santé.

M. Denis BEMER – Responsable d'études (Institut national de recherche et de sécurité) – Spécialités : physique et métrologie des aérosols - filtration de l'air. (Démission le 3 juillet 2020)

Mme Valérie BEX – Responsable de la cellule santé habitat (Service parisien de santé environnementale) – Spécialités : métrologie des polluants biologiques, qualité de l'air intérieur.

Mme Nathalie BONVALLOT – Enseignant chercheur (Ecole des hautes études en santé publique) – Spécialités : toxicologie, évaluation des risques sanitaires.

M. Denis CAILLAUD – Professeur des universités, praticien hospitalier (CHU de Clermont-Ferrand) – Spécialités : pneumologie, allergologie, épidémiologie-environnement (pollens, moisissures).

M. Jean-Dominique DEWITTE - Professeur des universités, praticien hospitalier (Université de Brest) – Spécialités : santé travail, pneumologie.

M. Marc DURIF – Responsable de Pôle (Institut national de l'environnement industriel et des risques) – Spécialités : métrologie et méthode d'analyse des polluants de l'air, caractérisation des expositions.

Mme Emilie FREALLE – Praticien Hospitalier (Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Institut Pasteur de Lille) – Spécialités : écologie microbienne de l'air, microbiologie analytique, évaluation et prévention du risque microbiologique, surveillance de l'environnement intérieur.

M. Philippe GLORENNEC – Enseignant chercheur (Ecole des hautes études en santé publique – Institut de recherche sur la santé, l'environnement et le travail, UMR Inserm 1085) – Spécialités : évaluation des expositions et des risques sanitaires d'origine chimique.

Mme Ghislaine GOUPIL – Chef de département, adjoint au chef du pôle environnement (Laboratoire Central de la Préfecture de Police) – Spécialités : métrologie des polluants (air intérieur, air ambiant et air des lieux de travail), techniques d'analyses, réglementation air.

Mme Marianne GUILLEMOT – Responsable d'études (Institut national de recherche et de sécurité) – Docteur en Chimie – Spécialités : métrologie, surveillance atmosphérique et des environnements professionnels.

Mme Bénédicte JACQUEMIN – Chargée de recherche (INSERM) – Spécialités : épidémiologie environnementale, pollution atmosphérique.

M. Olivier JOUBERT – Maître de conférences (Université de Lorraine) – Spécialités : toxicologie, sécurité sanitaire.

Mme Danièle LUCE – Directrice de recherche (Institut national de la santé et de la recherche médicale) – Spécialités : Epidémiologie, santé travail.

Mme Corinne MANDIN – Chef de division (Centre Scientifique et Technique du Bâtiment) – Spécialités : évaluation des expositions et des risques sanitaires, environnements intérieurs.

M. Fabien MERCIER – Ingénieur de recherche, Responsable R&D (Ecole des hautes études en santé publique / Laboratoire d'étude et de recherche en environnement et santé) – Spécialités : métrologie des polluants, méthodes d'analyse, air intérieur.

Mme Christelle MONTEIL – Enseignant-chercheur (Université de Rouen Normandie) – Spécialité : toxicologie.

Mme Anne OPPLIGER – Privat-Docteur & Maître d'Enseignement et de Recherche (Institut universitaire romand de Santé au Travail, Lausanne) – Spécialités : Santé travail, risques biologiques, bioaérosols, agents zoonotiques.

M. Pierre PERNOT – Responsable de service (Airparif) – Spécialités : surveillance et réglementation de la qualité de l'air.

Mme Chantal RAHERISON - Professeur des universités, praticien hospitalier (Université de Bordeaux) – Spécialités : pneumologie, allergologie, épidémiologie. (Démission le 7 novembre 2018).

■ **CES « Valeurs sanitaires de référence » (CES VSR) (2021-2023) - le 8 janvier 2021, le 4 février 2021, le 12 mars 2021 et le 11 mars 2022**

Président

M. Fabrice MICHIELS – Médecin du travail / toxicologue à l'Association Interentreprises pour la Santé au Travail Corrèze – Compétences : Médecine du travail, toxicologie

Vice-président

Mme Anne MAITRE – Professeur des Universités – Praticien Hospitalier (PU-PH) au Laboratoire de Toxicologie Professionnelle et Environnementale, CHU de Grenoble ; Responsable de l'équipe « Environnement et prédiction de la santé des populations », Laboratoire TIMC, Université Grenoble Alpes – Compétences : médecine, toxicologie, IBE, métrologie des polluants, hygiène industrielle

Membres

M. Luc BELZUNCES – Directeur de Recherche et Directeur du Laboratoire de Toxicologie Environnementale à l'INRAE – Compétences : Toxicologie générale, Neurotoxicologie, Ecotoxicologie, chimie analytique, évaluation des risques

Mme Michèle BISSON – Toxicologue Responsable d'étude à l'INERIS – Compétences : Pharmacien toxicologue, VTR, évaluation des risques sanitaires

Mme Céline BOTINEAU - Ingénieur de prévention du risque chimique au CEA – Compétences : Hygiène industrielle, chimie

Mme Anne CHEVALIER – Retraitée de l'Institut de Veille Sanitaire - Compétences : épidémiologie

M. François CLINARD - Épidémiologiste à l'Agence Santé Publique France – Compétences : Pharmacien toxicologue, épidémiologie, évaluation des risques sanitaires

Mme Fatiha EL-GHISSASSI – Scientifique, Section des Monographies du CIRC (IMO). Centre International de Recherche sur le Cancer - Compétences : biochimie spécialiste en cancérogénèse et génotoxicité

M. Claude EMOND – Professeur adjoint de clinique à l'Université de Montréal – Compétences : Toxicologie, modèle PBPK, toxicocinétique, nanotoxicologie, perturbateurs endocriniens

M. Robert GARNIER – Médecin toxicologue, Centre antipoison de Paris - Compétences : Toxicologie médicale, Santé au travail - Santé environnementale

Mme Perrine HOET – Professeur à l'Université Catholique de Louvain. IREC – Compétences : médecine, toxicologie industrielle et environnementale

M. Kevin HOGEVEEN – Anses - Fougères – Compétences : Toxicologie, génotoxicité, hépatotoxicité

Mme Yuriko IWATSUBO – Médecin épidémiologiste à Santé publique France – Compétences : épidémiologie des risques professionnels

M. Frédéric LIRUSSI – Professeur des Universités– Praticien Hospitalier (PU-PH) à l'UFR des Sciences de Santé & CHRU de Besançon - Compétences : Toxicologie Clinique, Toxicologie analytique, Immunité Innée, Reprotoxicité

M. Luc MULTIGNER – Directeur de recherche, INSERM U1085 - IRSET – Compétences : Epidémiologie, Perturbateurs Endocriniens, Pathologies des fonctions et des organes de la reproduction

Mme Nadia NIKOLOVA-PAVAGEAU – Conseiller médical à l'INRS – Compétences : Médecine du travail, toxicologie médicale, IBE

M. Benoît OURY – Responsable d'études à l'INRS – Compétences : Métrologie atmosphérique, évaluation expositions professionnelles

M. Henri SCHROEDER – Professeur associé à la Faculté des Sciences et Technologies de l'Université de Lorraine– Laboratoire CALBINOTOX, EA 7488 - Pharmacien neurobiologiste - Compétences : Neurotoxicité, polluants environne taux, comportement animal, développement cérébral, exposition périnatale

M. Olivier SORG – Chef de groupe de recherche à l'Université de Genève - Compétences : Docteur es science en biochimie, toxicologie expérimentale, dermatotoxicologie

M. Jérôme THIREAU – PhD, Chargé de recherche au CNRS - Compétences : Physiologie animale, électrophysiologie, biologie cellulaire, cardiotoxicité

Mme Maeva WENDREMAIRE – Maître de conférences à l'Université de Bourgogne et biologiste au CHU de Dijon – Compétences : Toxicologie, reprotoxicité, pharmacologie, toxicologie analytique

■ **CES « Evaluation des risques liés aux milieux aériens » – (2021-2023) – le 14 janvier 2021, le 5 février 2021, le 18 mars 2021 et le 4 octobre 2021.**

Présidente

Mme Rachel NADIF - Chargée de recherche à l'INSERM, responsable de l'équipe « Epidémiologie Respiratoire Intégrative » - Spécialités : Epidémiologie – Santé publique – Environnement – Santé respiratoire – marqueurs biologiques - génétique

Vice-président

M. Hervé LABORDE-CASTÉROT - Chef de clinique des universités, Praticien hospitalier contractuel au Centre antipoison, Coordonnateur de la Consultation de Pathologie Professionnelle et de l'environnement (AP-HP Hôpital Lariboisière - Fernand Widal) – Spécialités : Pathologies professionnelles / toxicologie / allergologie / épidémiologie

Membres

Mme Sophie ACHARD - Enseignante-Chercheuse en Toxicologie environnementale (Université Paris Descartes) – Spécialités : Toxicologie environnementale – Impact des pollutions aéroportées sur la santé (respiratoire, cutanée, oculaire) – Etudes in vitro

M. Fabrice ALLIOT - Ingénieur d'études en analyse chimique (Ecole Pratique des Hautes Etudes – Spécialités : Air ; analyse chimique ; perturbateurs endocriniens ; prélèvements

M. Michel ANDRÉ - Directeur de recherche en environnement (Université Gustave Eiffel (ex-IFSTTAR)) – Spécialités : Métrologie des particules / Emissions des véhicules routiers et parc roulant / Modélisation des émissions du transport routier

Mme Nathalie BONVALLOT - Enseignante-Chercheuse en Toxicologie appliquée à la santé publique, Directrice adjointe de l'IRSET (EHESP) – Spécialités : Valeurs toxicologiques de référence, Modélisation risques sanitaires, Toxicologie expérimentale

M. Patrick BROCHARD - Professeur émérite à l'université de Bordeaux, médecine du travail (retraité) – Spécialités : Pneumologie - Toxicologie - Epidémiologie - Amiante- Médecine du travail - Caractérisation des expositions

Mme Fleur DELVA - Praticien hospitalier - Médecin de santé publique, Médecin coordonnateur du centre ARTEMIS (CHU de Bordeaux) – Spécialités : Médecine, Prévention, Reproduction, Epidémiologie

M. Jean-Dominique DEWITTE - PU-PH, médecine et santé au travail, Chef du Service de Santé au travail et des maladies liées à l'environnement (CHRU Site Morvan) – Spécialités : Pathologies respiratoires professionnelles, allergologie, amiante, silicose, cancers professionnels, dermatologie professionnelle

M. Marc DURIF - Responsable du Pôle Caractérisation de l'environnement (INERIS) – Spécialités : Métrologie. Air ambiant. Air intérieur. Surveillance industrielle. Expologie. Gaz/Particules.

Mme Emilie FREALLE - Praticien Hospitalier (CHRU de Lille) – Spécialités : Mycologie environnementale, Mesure de l'exposition aux bioaérosols (prélèvement et analyse), Surveillance de l'environnement intérieur, Analyse microbiologique

M. François GAIE-LEVREL - Ingénieur chercheur (LNE) – Spécialités : Métrologie, pollution atmosphérique, aérosols, nanoparticules, environnement

M. Philippe GLORENNEC - Enseignant-chercheur en expologie et évaluation des risques sanitaires (EHESP) – Spécialités : Evaluation des risques sanitaires, expologie, air, poussières sédimentées, plomb

Mme Marianne GUILLEMOT - Responsable d'études (INRS) – Spécialités : Capteurs chimiques ; adsorption sur support solide ; prélèvement et analyse pour l'évaluation des expositions professionnelles

Mme Marion HULIN - Chargée de projet et d'expertise scientifique en santé publique (SPF) – Spécialités : Epidémiologie, qualité de l'air intérieur, pesticides, santé, expologie

Mme Bénédicte JACQUEMIN - Chargée de recherche à l'INSERM en épidémiologie environnementale – Spécialités : Epidémiologie environnementale, Pollution atmosphérique

M. Olivier JOUBERT - Maître de conférences HDR en toxicologie (Université de Lorraine, Institut Jean Lamour) – Spécialités : Toxicologie, sécurité sanitaire, biologie moléculaire, particules

Mme Juliette LARBRE - Directrice du Laboratoire Polluants Chimiques en Santé Environnement (Mairie de Paris, Service Parisien de Santé Environnementale (SPSE)) – Spécialités : Qualité de l'air intérieur et extérieur ; métrologie ; Santé environnement

Mme Barbara LE BOT (SALMON) - Professeur d'Université en chimie - Directrice adjointe du Laboratoire d'étude et recherche en environnement et santé (EHESP) – Spécialités : Exposition, santé publique, environnement et santé, Chimie analytique / outils métrologiques air et poussière / physico-chimie des polluants et transfert

Mme Johanna LEPEULE - Chargée de recherche à l'INSERM en Santé publique – Spécialités : Pollution de l'air, santé périnatale, épidémiologie, grossesse, épigénétique, modélisation des expositions

Mme Danièle LUCE - Directrice de recherche à l'INSERM – Spécialités : Epidémiologie, cancer, expositions professionnelles, exposition environnementale, amiante, inégalités sociales

Mme Corinne MANDIN - Chef de la division Expologie – OQAI (CSTB) – Spécialités : Air intérieur (et réglementation associée), environnements intérieurs, exposition, évaluation des risques sanitaires, COV, COSV, particules, fibres

Mme Anne OPPLIGER - Responsable de recherche en risque biologique (Centre universitaire de médecine générale et santé publique de Lausanne (ex-IST)) – Spécialités : Risques biologiques, bioaérosols, moisissures, zoonoses, élevage intensif, antibiorésistance, santé au travail

M. Pierre PERNOT - Directeur Opérationnel (AIRPARIF) – Spécialités : Méthodes de mesure - Surveillance de la qualité de l'air et réglementation associée

M. Nhan PHAM THI - Chercheur-enseignant unité épidémiologie économie PH allergologue, pneumologue (École Polytechnique) – Spécialités : Allergologie, pneumologie

M. Jean-Marc THIBAUDIER – Médecin, Retraité de la Mutualité Sociale Agricole des Alpes du Nord (2019, ancien Médecin responsable équipe de Santé au travail en agriculture sur 3 départements) – Spécialités : Médecine, agriculture, santé au travail, produits phytosanitaires, poussières agricoles, engrais

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Marion KEIRSBULCK – Direction de l'évaluation des risques

M. François POUZAUD – Direction de l'évaluation des risques

Contribution scientifique

Mme Morgane BACHELOT – Direction de l'évaluation des risques

M. Thomas CARTIER – Direction de l'évaluation des risques

Mme Amélie CREPET – Direction de l'évaluation des risques

Mme Clémence FOURNEAU – Direction de l'évaluation des risques

M. Julien JEAN – Direction de l'évaluation des risques

Mme Marion KEIRSBULCK – Direction de l'évaluation des risques

M. François POUZAUD – Direction de l'évaluation des risques

Secrétariat administratif

Mme Sophia SADDOKI – Anses

Mme Isabelle PIERI – Anses

AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES

Ecole des hautes études en santé publique

M. Kévin FOURNIER – Doctorant - EHESP

SOMMAIRE

| | |
|--|-----------|
| Présentation des intervenants | 3 |
| Sigles et abréviations | 18 |
| Termes, définitions | 23 |
| Liste des tableaux | 30 |
| Liste des figures | 31 |
| 1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise | 32 |
| 1.1 Contexte..... | 32 |
| 1.2 Objet de la saisine | 33 |
| 1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation | 34 |
| 1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts | 37 |
| 2 Prise en compte des mélanges de substances chimiques dans le cadre de valeurs guides existantes | 38 |
| 2.1 Eaux destinées à la consommation humaine (EDCH) | 38 |
| 2.2 Alimentation humaine | 39 |
| 2.3 Sites et sols pollués..... | 40 |
| 2.4 Air ambiant | 41 |
| 2.5 Environnement intérieur..... | 42 |
| 2.6 Synthèse | 42 |
| 3 Prise en compte des mélanges pour la démarche d'évaluation des risques | 44 |
| 3.1 Introduction..... | 44 |
| 3.2 Etape de regroupement..... | 48 |
| 3.2.1 Regroupements des contaminants selon leurs familles chimiques | 48 |
| 3.2.2 Regroupements des contaminants selon un effet ou mécanisme d'action commun..... | 48 |
| 3.2.3 Regroupements des contaminants selon l'exposition réelle de la population | 50 |
| 3.2.4 Regroupements des contaminants chimiques en combinant les données d'exposition et les effets communs | 51 |
| 3.2.5 Perspectives..... | 55 |
| 3.3 Méthodes de cumul pour l'évaluation des risques..... | 55 |
| 3.3.1 Méthodes reposant sur l'additivité | 55 |
| 3.3.2 Méthodes reposant sur l'antagonisme ou la synergie | 63 |
| 3.4 Approche globale prenant en compte le mélange en lui-même..... | 68 |
| 3.4.1 Données épidémiologiques et toxicologiques | 68 |
| 3.4.2 Données issues des études sur l'exposome | 72 |
| 4 Conclusions et recommandations | 80 |
| 4.1 Choix des substances | 80 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 4.2 | Sélection d'un modèle de construction | 81 |
| 5 | Bibliographie | 82 |
| | Annexe 1 : Applications réglementaires de l'évaluation du risque cumulé..... | 103 |
| | Annexe 2 : Exemples d'utilisation de l'approche « hazard index » (HI) | 110 |
| | Annexe 3 : Exemples d'utilisation de l'approche « point of departure index » (PODI) | 114 |
| | Annexe 4 : Exemples d'utilisation de l'approche « toxic equivalency factors » (TEF) ou « relative potency factors » (RPF)..... | 116 |
| | Annexe 5 : Mise en consultation publique du rapport d'état des lieux des méthodes existantes | 121 |
| | Annexe 6 : Présentation des positions divergentes et abstentions..... | 122 |
| | Annexe 7 : Suivi des actualisations du rapport..... | 123 |

Sigles et abréviations

ACGIH : *American Conference of Governmental Industrial Hygienists*

ADI : *Acceptable daily intake*

AhR : récepteurs aux hydrocarbures aromatiques

AOEL : *Acceptable Operator Exposure Level*

ARfD : *Acute reference dose*

ARR : Analyse des risques résiduels

ATSDR : *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*

BBDR : *Biologically based dose-response*

BBP : n-butyl benzyl phthalate

BDE : Bromodiphényléthers

BHI : *Biological hazard index*

BMD/C : *Benchmark dose/concentration*

BMDL : Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose (généralement 90 ou 95 %)

BMR : *Benchmark Response*

B[a]P : benzo[a]pyrène

BPA : Bisphénol A

CAG : *Cumulative assessment group*

CAS : *Chemical Abstract Service*

CCl4 : Tétrachlorure de carbone

CEFIC : *European Chemical Industry Council*

CES : Comité d'experts spécialisé

CLI : Concentration limite d'intérêt

COSV : Composés organiques semi-volatils

COV : Composés organiques volatils

COVT : Composés organiques volatils totaux

CRPF : *Cumulative relative potency factors*

CT : Concentration tolérable

CYP P450 : Cytochrome P 450

DBP : Dibutyl-phthalate

DBT : Dibutylétain

DCE : 1,1-dichloroéthylène

DDD : Dichlorodiphényldichloroéthane

DDE : Dichlorodiphényldichloroéthylène

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

DEHP : Diéthylhexyl-phtalate
DEP : Diéthyl-phtalate
DGS : Direction générale de la santé
DGPR : Direction générale de la prévention des risques
DINP : Diisononyl-phtalate
DIBP : Di-isobutyl-phtalate
DJA : Dose journalière admissible
DJE : Dose journalière d'exposition
DJT : Dose journalière tolérable
DL/CL₅₀ : Dose/Concentration Létale à 50 %
DMEP : Phtalate de bis(2-méthoxyéthyle)
DNEL : *Derived No-Effect Level* (en français : dose dérivée sans effet - effet à seuil de dose)
DOT : Di-n-octylétain
EAT : Etude d'alimentation totale
EC/ED₅₀ : *Effective concentration/dose* (pour une réponse de 50 %)
ECHA : *European chemicals agency*
EDCH : Eaux destinées à la consommation humaine
EFSA : *European Food Safety Authority*
ERC : Evaluation de risque cumulé
E(Q)RS : Evaluation (quantitative) de risque sanitaire
ERI : Excès de risque individuel
ERU : Excès de risque unitaire
FDA : *Food and Drug Administration*
GD : *Gestational day*
GT : Groupe de travail
GTMM : *Generalized physiologically-based toxicokinetic modeling for mixtures*
HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HCBD : hexachloro-1,3-butadiène
HCSP : Haut Conseil de la Santé Publique
HEI : *Health Effects Institute*
HI : *Hazard index*
HSDB : *Hazardous Substances Data Bank*
ICDE/ICED : *Index chemical equivalent dose*
ICPE : Installations classées pour la protection de l'environnement
IEM : Interprétation de l'état des milieux
IGHRC : *Interdepartmental Group on Health Risks from Chemicals*
ILSI : *International Life Sciences Institute*
INCA : Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires

INERIS : Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

INRAE : institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (anciennement Inra et Irstea)

INRS : Institut National de Recherche et de Sécurité

IPCS : *International Programme on Chemical Safety*

IRSST : Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et en Sécurité du Travail

ITER : *international toxicity estimates for risk*

JMPR : *Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues*

LASSO : *Least Absolute Shrinkage and Selection Operator*

LMR : Limite maximale de résidus

LNH : Lymphomes non hodgkiniens

LOAEL/C : *Lowest observed adverse effect level/concentration* (en français : D/CMENO : Dose/Concentration Minimale avec Effet Néfaste Observé)

MCR : *Maximum cumulative ratio*

MCRA : *Monte Carlo Risk Assessment*

METDB : *Multiple effects toxicity database*

MHI : *Multipathway hazard index*

MOE : *Marge of exposure* (en français : marge d'exposition)

MPR : *Maximum permissible risk level*

MRL : *Minimal Risk Level*

NHANES : *National Health and Nutrition Examination Survey*

NIST : *National Institute of Standards and Technology*

NOAEL/C : *No observed adverse effect level/concentration* (en français : D/CSENO : Dose/Concentration Sans Effet Néfaste Observé)

NRC : *National Research Council*

OQAI : Observatoire de la qualité de l'air intérieur

OMC : Octyl-méthoxycinnamate

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORP : *Overall risk probability*

OSHA : *Occupational Safety and Health Administration*

PBDE : Polybromodiphényléthers

PBPK : *Physiologically based pharmacokinetics*.

PBTK : *Physiologically Based Toxicokinetics*

PCB : Polychlorobiphényles

PCDD : Polychlorodibenzo-p-dioxines

PCDF : Polychlorodibenzofuranes

PE : Perturbateur endocrinien

PFAS : per- et polyfluoroalkylées

PFC : perfluorocarbures

PFOS : acide perfluorooctanesulfonique

PND : *Postnatal day*

POD : *Point of departure*

PODI : *Point of departure index*

QD : Quotient de danger (en anglais: Hazard quotient)

QSAR : *Quantitative structure-activity relationships*

REACH : *Registration, Evaluation and Autorisation of CHemicals*

RfD/RfC : *Reference Dose/Concentration*

RfPI : *Reference point index*

RIVM : Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (en français : Institut national néerlandais de la santé publique et de l'environnement).

RPF : *Relative potency factor*.

RNV3P : Réseau national de vigilance et de prévention des pathologies professionnelles

SCHER : *Scientific Committee on Health and Environmental Risks*

SFSE : Société Française de Santé et Environnement

SIG : Système d'information géographique

SMRI : *Similar mixtures risk indicator*

SPF : Santé publique France (anciennement Institut de veille sanitaire)

TBT : Tributylétain

TCDD : 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine

TCE : Trichloroéthylène

TCTFP : 1,1,2-trichloro-3,3,3-trifluoroproène

TDI : *Tolerable daily intake*

TEF : *Toxicity equivalency factor*

TEQ : *Toxicity equivalency quantity*

THM : Trihalométhanes

TLV : *Threshold limit values*

TPT : Triphénylétain

TUS : *Toxic unit summation*

UF : *Uncertainty factor*

US EPA : *United States Environment Protection Agency*

VGAI : Valeur guide de qualité d'air intérieur

VLB/VBR : Valeur limite biologique /valeur biologique de référence

VLCT : Valeur limite court terme

VLEP : Valeur limite d'exposition professionnelle

VTi : Valeur toxicologique indicative

VTR : Valeur toxicologique de référence

WoE : *Weight of evidence*

Termes, définitions

Préambule : Les définitions existantes dans les glossaires du guide méthodologique de l'Anses relatif à l'élaboration des VTR¹ (Anses, 2017a), de l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS) sur les installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE)², du site de l'Agence européenne de la sécurité des aliments (European food safety authority - EFSA)³ et du site de l'Agence américaine des substances toxiques (Agency for Toxic Substances and Disease Registry - ATSDR)⁴ ont été reprises et synthétisées si nécessaire dans ce chapitre.

La question de l'exposition de l'Homme à des mélanges ainsi que le risque pour la santé associé nécessite de définir au préalable les termes utilisés qui font référence notamment à des concepts d'exposition et de danger.

L'exposition agrégée est couramment utilisée pour définir l'exposition à un contaminant *via* les différentes sources (aliments, eau, air, produits de consommation) et voies d'exposition (ingestion, inhalation, cutanée) dont il peut être issu. Ainsi, le risque agrégé correspond au risque associé à l'exposition à un unique contaminant depuis différentes voies.

L'exposition combinée ou coexposition renvoie quant à elle à une exposition simultanée à plusieurs contaminants *via* une ou plusieurs voies d'exposition.

La présence ou l'absence d'interaction des contaminants, présents dans un mélange, entre eux va définir le type d'évaluation du risque cumulé. Les définitions considérées dans ce rapport sont des définitions générales qui ne décrivent pas les phénomènes d'interaction qui peuvent exister. Ce rapport n'aborde pas les données existantes permettant d'évaluer la nature des interactions entre contaminants.

Typologie des (inter)actions (US EPA, 2000)

| Type d'interaction | Effets | Actions | |
|--------------------|-------------------------|--|--------------------------------|
| SANS INTERACTION | Additivité des doses | Actions semblables simples | |
| | Additivité des réponses | Actions dissemblables simples = actions indépendantes | |
| AVEC INTERACTION | Synergie | Actions semblables complexes | } Effet > additivité |
| | Potentialisation | Actions dissemblables complexes | |
| | Antagonisme | Actions semblables complexes | } Effet < additivité |
| | Inhibition | Actions dissemblables complexes | |

¹ <https://www.anses.fr/fr/system/files/SUBSTANCES2017SA0016Ra.pdf>

² https://www.ineris.fr/sites/ineris.fr/files/contribution/Documents/Ineris_GuideERS-Juillet2021-A4-%2310Quatro_Web.pdf : Annexe 1

³ <https://www.efsa.europa.eu/fr/glossary-taxonomy-terms>

⁴ <http://www.atsdr.cdc.gov/glossary.html>

| | |
|--------------------------------|---|
| <u>Additivité</u> | Dans le cadre d'une évaluation de risque cumulé, l'additivité consiste à additionner les doses, les concentrations, ou les réponses biologiques de chaque contaminant d'un mélange, afin d'évaluer le risque global du mélange. Cette approche n'est valable que si les composants individuels ont des propriétés toxicologiques semblables sur un organe ou système cible. |
| <u>Antagonisme³</u> | Décrit un contaminant ayant un effet opposé à celui d'un autre contaminant et annulant ou diminuant ainsi son action (par exemple, une hormone qui, une fois libérée dans l'organisme, empêche une autre hormone d'agir). |
| <u>Potentialisation</u> | Situation où un contaminant exacerbe les effets d'un autre contaminant, sans produire lui-même ces effets (Kortenkamp <i>et al.</i> , 2009). |
| <u>Synergie</u> | Interaction de plusieurs contaminants ou processus dont l'effet est supérieur à la somme des effets individuels de chaque contaminants ou processus. |
| <u>Biosurveillance humaine</u> | Santé publique France la définit comme regroupant les activités de surveillance, utilisant des biomarqueurs, qui se concentrent sur les expositions environnementales, les maladies et / ou les troubles et la susceptibilité génétique, et leurs relations potentielles. <u>Biomarqueur²</u> Biomarqueur d'exposition : peut être défini comme un contaminant chimique ou ses produits de dégradation présents une matrice biologique. Sa mesure correspond au niveau de concentration du contaminant ou produits de dégradation dans la/les matrice(s) biologique(s) considérée(s). Biomarqueur d'effet : réponse biologique vis-à-vis de ce contaminant. Par exemple, la caractérisation d'effets biologiques précoces comme une variation d'activité enzymatique, les concentrations circulantes d'hormones, une altération de l'ADN ou des biomarqueurs de l'immunité. |
| <u>CLI</u> | <u>Concentration limite d'intérêt</u> : la CLI est une valeur limite d'émission d'une substance donnée issue de produits de consommation, dont les matériaux de construction et de décoration : concentration limite dont l'objectif est de prévenir la survenue d'effets sanitaires lors d'une exposition à long terme à des émissions de COV. Elle n'est pas utilisable comme valeur guide de qualité d'air, valeur toxicologique de référence ou valeur limite d'exposition professionnelle (Anses, 2015). |
| <u>Contaminant</u> | Élément, tel qu'une matière solide, liquide ou gazeuse, une radiation, un son, une vibration, une chaleur ou une odeur, susceptible de nuire à la santé des êtres vivants ou d'altérer la qualité de l'environnement. |
| <u>Danger^{2,3}</u> | Propriété d'un agent, ou situation, susceptible de causer des effets néfastes à l'organisme qui y est exposé. Exemple : toxicité d'une substance émise. Situation ou possibilité pour une substance, du fait de ses caractéristiques ou propriétés intrinsèques, de provoquer des |

dommages aux personnes, aux biens, à l'environnement. Effet sanitaire indésirable comme le changement d'une fonction ou d'une valeur biologique, de l'aspect ou de la morphologie d'un organe, une malformation fœtale, une maladie transitoire ou définitive, une invalidité ou une incapacité, un décès (1ère étape de l'ERS).

ERS

Évaluation du risque sanitaire² ; Processus en quatre étapes qui comprend l'identification du potentiel dangereux de contaminant, l'évaluation de la relation dose-effet, l'évaluation de l'exposition et la caractérisation des risques. Procédure visant à calculer ou estimer le risque pour un organisme, un système ou une (sous)population, incluant l'identification des incertitudes liées, consécutif à l'exposition à un contaminant particulier, prenant en compte à la fois les caractéristiques de l'agent en question et de la cible spécifique.

ARR - Analyse des risques résiduels : Dénomination de la démarche d'évaluation quantitative des risques sanitaires proposée dans la méthodologie de gestion des sites et sols pollués proposée par la DGPR en 2017.

ERI¹ - Excès de Risque Individuel : Probabilité d'occurrence d'un effet sur la santé de sujets exposés au contaminant étudié sur la vie entière par rapport au risque de base.

HQ - Hazard Quotient : Quotient de danger (QD en français) ; Rapport entre la dose (ou concentration) d'exposition et la dose (ou concentration) de référence, utilisé pour caractériser le risque d'effets à seuil liés aux contaminants.

MOE² - Margin of Exposure : La marge d'exposition, est un outil utilisé dans l'évaluation des risques pour explorer les problèmes de sécurité posés par la présence d'un contaminant dans des aliments destinés à l'alimentation humaine ou animale. Rapport entre la dose de référence et la dose d'exposition qui doit être comparé à une marge d'exposition de référence (cf. chapitre 3.3.1.3).

ERC

Evaluation du risque cumulé³ : Méthode d'évaluation des risques sanitaires ou environnementaux posés par des mélanges.

HI - Hazard Index : Indice de risque utilisé lors de l'évaluation des risques d'un mélange sous l'hypothèse d'additivité. Il correspond à la somme des quotients de danger (*Hazard quotient* – HQ) de chaque constituant du mélange (cf. chapitre 3.3.1.2).

Celui-ci peut être modifié afin de prendre en compte les interactions entre les composés comme proposé par la méthode « Weight of evidence » (WoE) et HI_{int} (cf. chapitre 3.3.2.1).

BHI - Biological Hazard Index : Indice de danger biologique, basé sur les données de biosurveillance ; ne tient pas compte des interactions possibles entre les constituants d'un mélange (cf. chapitre 3.3.2.1).

MCR - Maximum Cumulative Ratio : Indice permettant de mettre en évidence les constituants d'un mélange qui contribuent de manière déterminante au risque global (cf chapitre 3.2.1.2).

PODI - Point of Departure Index : Indice de danger semblable au *Hazard Index (HI)* en remplaçant les VTR des contaminants d'un mélange par les POD (pour un même effet) (cf. chapitre 3.3.1.3).

TEQ - Toxicity Equivalency Quantity² : Équivalent Toxique : somme des concentrations de différents toxiques de la même famille, pondérées par le facteur d'équivalence toxique (FET) affecté à chacun, exprimé par rapport à la substance de référence. Par exemple : équivalent TCDD pour les dioxines ou équivalent B[a]P pour les HAP (cf. chapitre 3.3.1.4).

TUS - Toxic Unit Summation : Indice de danger semblable au *PODI* défini à l'origine pour le risque écotoxicologique, dans lequel les quotients de danger reposent sur les concentrations efficaces (*effective concentration*, EC₅₀) des constituants. Correspond à la concentration efficace du mélange (cf. chapitre 3.3.1.1).

Exposition^{2,3}

Mise en contact d'un contaminant et d'une cible (organisme, système ou (sous-)population). Concentration ou quantité d'une substance donnée en contact avec une personne, une population ou un écosystème à une fréquence spécifique, dans un intervalle de temps donné.

Exposome

Concept reposant sur une vision large de l'exposition, intégrant une composante temporelle de la conception à la mort, en particulier les périodes d'exposition clefs de la vie (enfance, puberté, grossesse, ...). Le concept d'exposome intègre également les facteurs socio-économiques, géographiques et démographiques.

IEM²

Interprétation de l'Etat des Milieux : démarche d'évaluation à mettre en œuvre pour apprécier l'acceptabilité des impacts d'un site ou d'une installation sur son environnement. D'une manière plus générale, cette démarche de gestion permet de vérifier la compatibilité entre l'état des sites et des milieux et leurs usages.

Mélange

Présence concomitante d'au moins 2 contaminants de toute nature en un même lieu et sur une même temporalité, conduisant à une exposition cumulée de la population.

Mode d'action

Hypothèse sur la séquence d'événements clef mesurables, par lesquels un contaminant exerce ses effets biologiques. Il est souvent confondu ou utilisé de manière analogue au mécanisme d'action mais il est considéré comme plus large. Le mécanisme d'action étant une séquence d'évènements moléculaires qui produit un effet biologique spécifique (Kortenkamp, 2009).

PBPK¹

Physiologically Based Pharmacokinetics. Les modèles toxicocinétiques à base physiologique sont des modèles mathématiques qui permettent de décrire l'absorption, la distribution, le métabolisme, et l'excrétion d'un contaminant au sein d'un organisme donné. Le corps est décrit comme un ensemble de compartiments (modèle conceptuel) pouvant ou non être regroupés entre eux selon leurs caractéristiques physiologiques. Les interconnexions entre ces différents compartiments sont représentées par les échanges sanguins

(circulation systémique) entre les différents organes. Le flux des contaminants est modélisé par un système d'équations différentielles décrivant la quantité d'un contaminant dans les différents organes en fonction du temps. Des paramètres physiologiques comme le flux sanguin, le volume des organes, les coefficients de partage ou encore le taux de ventilation sont utilisés pour paramétrer le modèle (Anses, 2017a).

De manière analogue, on définit un modèle PBTK (*Physiologically Based Toxicokinetics*) dans le cadre de l'analyse de risque toxicologique.

POD

Point of Departure. Indicateur (dose, concentration) généralement expérimental permettant de dériver une valeur toxicologique de référence ; le plus souvent, il s'agit de NOAEL, LOAEL, BMD ou BMDL.

BMD - Benchmark Dose¹ Dose produisant un effet mesurable correspondant à un niveau de réponse prédéfinie par rapport à un groupe témoin.

BMDL Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la benchmark dose (généralement 90 ou 95 %).

BMR Benchmark Response. Niveau de réponse à un stressor (par exemple 10 % de l'effet maximal) permettant de dériver une BMD.

LOAEL¹ Lowest Observed Adverse Effect Level: Dose Minimale avec Effet Néfaste Observé (DMENO en français) : Dose/concentration minimale entraînant un effet biologique ou sanitaire, considéré comme néfaste et statistiquement significatif par rapport au témoin.

NOAEL¹ No Observed Adverse Effect Level : Dose Sans Effet Néfaste Observé (DSENO en français) : Dose/concentration maximale n'entraînant pas d'effet sanitaire néfaste et statistiquement significatif par rapport au groupe témoin, issue de l'identification du LOAEL/C. Autrement dit, il s'agit de la dose testée qui précède directement le LOAEL.

RPF

Relative Potency Factor. Facteur de puissance relative, basé sur l'additivité des doses pour un mélange constitué de contaminants ayant des effets semblables ; correspond à la puissance relative par rapport à un composé de référence.

TEF

Toxicity Equivalent Factor : Facteur d'équivalence toxique (FET en français), défini pour les familles de substances ayant un mécanisme commun ; caractérise la toxicité relative d'un agent du groupe par rapport à l'agent de référence du même groupe ; établi à l'origine pour les dioxines et composés dioxin-like et hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), correspondant au RPF.

QSAR³

Quantitative Structure-Activity Relationships : Les relations quantitatives/qualitatives structure-activité, sont un ensemble de méthodes grâce auxquelles les effets de différents contaminants sont associés à leur structure moléculaire. Elles permettent de prédire les

effets nocifs ou bénéfiques probables d'un contaminant donné, en le comparant avec d'autres contaminants qui présentent des structures moléculaires similaires.

Elles ont pour but de prédire un effet expérimental (activité biologique, toxicité, affinité pour un récepteur) en s'appuyant sur l'analyse des activités de composés chimiques précédemment testées (Anses, 2017a).

Relation dose-réponse²

Relation exprimant l'intensité d'un effet biologique en fonction de la dose ou de la concentration d'un contaminant. Cette relation permet de déterminer des BMD, BMDL, puis des VTR, lesquelles sont intégrées à l'analyse de risque.

Relation dose-effet² : Relation quantitative entre la dose ou concentration d'un contaminant administrée ou absorbée et la nature⁵ ou l'intensité de l'effet néfaste de ce contaminant (2^{ème} étape de l'ERS).

Risque^{2,3}

Probabilité d'apparition d'un effet néfaste dans des conditions d'exposition données.

Caractérisation du risque : Détermination qualitative ou quantitative, incluant les incertitudes attenantes, de la probabilité d'occurrence d'effets néfastes connus ou potentiels d'un contaminant sur une cible dans des conditions d'exposition définies (4^{ème} étape de l'ERS).

SIG²

Système d'Information Géographique. Outil informatique de collecte, gestion, manipulation, analyse, modélisation et d'affichage de données spatialisées.

Toxicité³

Propriété intrinsèque d'un contaminant susceptible de provoquer des effets néfastes sur un organisme qui y est exposé.

VTR¹

Valeur toxicologie de référence (Anses, 2017a). Appellation générique regroupant tous les types d'indice toxicologique permettant d'établir une relation entre une dose et un effet (toxique à seuil d'effet) ou entre une dose et une probabilité d'effet (toxique sans seuil d'effet) en population humaine. Les VTR sont spécifiques d'une substance, d'une durée et d'une voie d'exposition. Par définition, une VTR est construite pour l'effet le plus sensible jugé néfaste protégeant ainsi de l'ensemble des effets toxiques observés dans les études disponibles pour une substance donnée. Elle s'exprime comme une dose journalière ou une concentration tolérable (DJT ou CT) pour décrire les effets à seuil ; ou comme l'inverse d'une dose ou concentration (ERU) pour les effets sans seuil.

VTi¹ - Valeur toxicologique indicative : Repère toxicologique pouvant être utilisé pour l'évaluation d'un risque. Il s'agit d'une valeur indicative moins robuste que la VTR présentant ainsi pour une substance donnée.

DJT ou DJA - Dose Journalière Tolérable ou Admissible : dose d'exposition sans risque appréciable pour l'Homme. Elle est construite

⁵ la nature de l'effet : irritant, sensibilisant, reprotoxique, cancérigène, neurotoxique, etc. (Anses, 2017a)

en divisant les POD par des facteurs d'incertitude. Autres dénominations : dose de référence (RfD) pour l'US EPA, Minimal Risk Level (MRL) pour l'ATSDR, reference exposure levels (REL) pour OEHHA.

ERU² - Excès de Risque Unitaire : Probabilité supplémentaire, par rapport à un sujet non exposé, qu'un individu contracte une pathologie s'il est exposé pendant sa vie entière à une unité de dose (ou de concentration) d'un contaminant (généralement pour les contaminants génotoxiques cancérogènes). L'ERU s'exprime en (mg/kg/j)⁻¹ pour la voie orale ou en (mg.m⁻³)⁻¹ pour la voie par inhalation.

VGAI

Valeur guide de qualité d'air intérieur. Concentration dans l'air*, associée à un temps d'exposition, en-dessous de laquelle aucun effet néfaste ou aucune nuisance ayant un retentissement sur la santé (dans le cas de composés odorants) ne sont en principe attendus pour la population générale. (*ou dans le cas d'effet sans seuil, concentration associée à un niveau de risque correspondant à une probabilité de survenue de la maladie).

VLEP

Valeur limite d'exposition professionnelle.

- Valeur Limite d'Exposition Professionnelle-8 heures (VLEP-8h), qui a pour objectif de protéger, à moyen et long termes, la santé des travailleurs régulièrement exposés à l'agent chimique considéré, et ce pendant la durée d'une vie de travail. Cette limite est, sauf indication contraire, la limite de la moyenne pondérée en fonction du temps de la concentration d'un agent chimique, dans l'air de la zone de respiration d'un travailleur au cours d'un poste de travail de 8 heures ;
- Valeur Limite d'exposition à Court Terme (VLCT-15 min) qui vise à protéger les travailleurs des effets néfastes (effets toxiques immédiats ou à court terme tels que des phénomènes d'irritation) sur la santé dus à des pics d'exposition. Il s'agit de la limite de la moyenne pondérée en fonction du temps de la concentration d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur sur une période de référence de 15 minutes (sauf indication contraire) pendant le pic d'exposition quelle que soit sa durée ;
- Valeur plafond : Il s'agit de la limite de concentration atmosphérique d'un agent chimique dans la zone de respiration d'un travailleur, qui ne doit être dépassée à aucun moment de la période de travail. Elle concerne principalement les agents reconnus comme irritants forts ou corrosifs ou pouvant causer un effet grave potentiellement irréversible, à très court terme. Des mesures analytiques spécifiques sont mises en œuvre pour mesurer cette valeur.

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Synthèse des critères d'élaboration des valeurs guides recensées | 42 |
| Tableau 2 : Groupes de composés organiques semi-volatils identifiés pour des effets sur le système reproducteur ou sur le système nerveux central (Fournier <i>et al.</i> , 2014a) | 52 |
| Tableau 3: Classification des mélanges en fonction des valeurs de <i>HI/MCR</i> | 58 |
| Tableau 4 : Quelques interactions entre métaux et CYP chez l'Homme et l'animal | 67 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Etapes de la revue de la littérature suivies pour l'expertise | 36 |
| Figure 2 : Schéma de progression de l'ERC en fonction de l'affinement de l'exposition et des dangers associés (Meek <i>et al.</i> , 2011)..... | 46 |
| Figure 3 : Principe du schéma conceptuel de Fournier <i>et al.</i> , (2014a) pour la réalisation d'une évaluation du risque cumulé selon la précision des données disponibles pour les substances aux différents niveaux hiérarchiques du vivant (traduit d'après Fournier <i>et al.</i> , 2014a)..... | 49 |
| Figure 4 : Cadre conceptuel intégratif représentant le continuum entre les expositions chimiques environnementales et les maladies cliniques (extrait et traduit de Zare Jeddi <i>et al.</i> (2021).... | 53 |
| Figure 5 : Arbre décisionnel pour l'évaluation de risque cumulé (Jonker <i>et al.</i> , 2004). «top-n» contaminants ou classes de contaminants : identification des n contaminants ou classes de contaminants les plus pertinents pour l'évaluation du risque (pas nécessairement les plus toxiques individuellement)..... | 54 |
| Figure 6 : Approche conceptuelle sur l'analyse des données épidémiologiques pour l'évaluation du risque cumulé (figure traduite et enrichie à partir de la proposition de Levy, 2008)..... | 69 |
| Figure 7 : Evaluation graphique du SMRI..... | 71 |
| Figure 8 : Concept d'exposome avec ses trois principaux facteurs d'exposition (Wild, 2012)..... | 73 |
| Figure 9 : Kit de mesure utilisé dans le cadre du projet HELIX pour caractériser l'exposition individuelle (Donaire-Gonzalez <i>et al.</i> 2019)..... | 76 |

1 Contexte, objet et modalités de réalisation de l'expertise

1.1 Contexte

La question de l'exposition de l'Homme à des mélanges ainsi que le risque potentiel sur la santé associé se pose depuis de nombreuses années. Des documents et recommandations institutionnels sont notamment publiés depuis les années 2000 pour la prise en compte des mélanges principalement dans le cadre d'évaluation des risques sur la santé humaine (US EPA, 2000 ; 2002 ; 2006a ; ILSI, 1999 ; ATSDR, 2001 ; 2004 ; Health Council of the Netherlands, 2002 ; IGHR, 2008 ; EFSA, 2008 ; 2009 ; 2013a,b ; 2019a ; IPCS/WHO, 2009 ; Kortenkamp *et al.*, 2009 ; SCHER, 2011).

Dans le domaine des substances chimiques, le nombre de composés enregistrés par le Chemical Abstract Service (CAS) était de 34 millions en 2008 (Stewart & Carter, 2009). En 2018, plus de 17 000 substances individuelles étaient d'ores et déjà enregistrées dans le cadre de la réglementation européenne REACH (règlement n°1907/2006). Le nombre exact de substances chimiques sur le marché de l'Union européenne n'est pas connu mais l'agence européenne des substances chimiques (ECHA) l'estimait en 2017 à près de 140 000 substances (<https://echa.europa.eu/fr/>).

Les substances chimiques sont utilisées dans de nombreux secteurs économiques : production alimentaire, fabrication de médicaments, industrie textile, industrie automobile, etc.

Les contaminations environnementales (air, eau, sols, etc.) peuvent résulter notamment :

- des procédés de fabrication et/ou de conditionnement et d'emballage ;
- de l'utilisation de produits de consommation contenant des substances chimiques dans la vie quotidienne ;
- des émissions issues non intentionnellement de la combustion ;
- de la persistance dans l'environnement de substances qui peuvent être interdites à présent dans la réglementation, etc.

La gestion des risques liés aux substances chimiques est encadrée d'une part par le règlement REACH, et d'autre part par des réglementations par milieux (eaux, air, etc.) et sectorielles (médicaments, cosmétiques, biocides, etc.) d'où découlent des analyses de risques séparées (Evans *et al.*, 2016). Concernant les mélanges de substances chimiques, il existe des référentiels de gestion des risques dans certaines de ces réglementations, notamment dans le domaine de l'alimentation où une approche progressive par étape est proposée pour l'évaluation du risque cumulé.

La question des mélanges, si elle reste complexe, peut aujourd'hui être traitée dans les démarches d'expertise compte tenu de l'existence de savoir-faire et le développement de modèles simplifiés faisant consensus. En évaluation des risques sanitaires et environnementaux, quelques exemples de dispositions réglementaires ont émergé, notamment pour l'exposition *via* l'alimentation (résidus de pesticides et eaux destinées à la consommation humaine) et l'étude de l'impact d'installations industrielles sur l'environnement et le voisinage. Des recommandations d'organismes institutionnels (US EPA, ATSDR, EFSA, SCHER) formalisent des approches méthodologiques considérant les connaissances sur l'interaction des contaminants et soulignent l'importance de leur mise en

application. L'hypothèse la plus recommandée repose sur le concept d'additivité des doses ou des réponses. De nombreuses études ont testé le modèle d'additivité des doses (ou concentrations) pour différents mélanges de contaminants ayant des propriétés toxicologiques semblables sur un organe ou système cible et ont montré que globalement, ce modèle prédit raisonnablement la toxicité des mélanges aux faibles doses/concentrations. Les modèles intégrant les notions d'antagonisme et de synergie sont nécessaires pour mieux comprendre et prendre en compte les bases mécanistiques des interactions, ainsi que les expositions à des doses/concentrations relativement élevées. Cependant, il est à noter qu'aux faibles doses, les interactions restent peu susceptibles de générer un risque très différent de celui évalué avec l'hypothèse d'additivité au regard des incertitudes inhérentes à la démarche même d'évaluation des risques.

L'évaluation des risques sanitaires vise à guider les décisions publiques en situation d'incertitudes. Certains dispositifs réglementaires recommandent certaines méthodes référencées dans des guides méthodologiques qui ne sont pas toutes adaptées à l'évaluation de mélanges. Il apparaît impossible de documenter, dans un cadre réglementaire, les dangers et les interactions entre les substances pour des expositions réelles, tant il existe de combinaisons de substances possibles auxquelles la population peut être exposée.

L'étude de mélanges peut correspondre à des combinaisons de contaminants différents : substances chimiques, facteurs physiques (bruit, température), et/ou agents biologiques (bactéries, moisissures, allergènes, toxines...). Le périmètre du présent travail est limité **aux seules substances chimiques**.

1.2 Objet de la saisine

La prise en compte de l'exposition humaine à des mélanges ainsi que le risque potentiel sur la santé associé est un enjeu méthodologique pour l'Anses notamment dans le cadre de ses missions pérennes d'expertise d'élaboration de valeurs de référence. Ces valeurs sont utiles, d'une part, pour l'évaluation des risques sur la santé, et, d'autre part, aux pouvoirs publics en vue de fixer des concentrations réglementaires de substances chimiques qu'il convient de ne pas dépasser pour préserver la santé des populations (générale, travailleurs). Jusqu'à présent, il n'était proposé que des valeurs de référence pour une substance individuelle ne prenant pas en compte l'exposition complexe de la population.

Ainsi, l'Anses a lancé en 2016 des travaux d'expertise collective en vue d'élaborer des valeurs de référence pour des mélanges de substances chimiques. Les réflexions associées ont été mises en œuvre selon plusieurs phases d'expertise collective avec des objectifs distincts.

Dans un premier temps, l'Anses a dressé un état des lieux des méthodes existantes pour prendre en compte les mélanges dans les domaines de l'évaluation des risques sanitaires et de la construction de valeurs de référence. Cet état des lieux fait l'objet du présent rapport et couvre la proposition de valeurs guides, et plus largement, la proposition par certaines institutions de valeurs de gestion⁶ considérant plusieurs contaminants à mesurer simultanément. Ce rapport propose une série de recommandations méthodologiques, d'une part sur le choix des contaminants, et d'autre part sur les méthodes à employer pour la construction de valeurs de référence pour un mélange. Un focus est fait sur les risques pour la santé humaine, mais les méthodes complémentaires concernant

⁶ On entend par valeurs de gestion les valeurs guides, qu'elles soient indicatives ou réglementaires, les valeurs limites, ou toutes autres valeurs proposées visant à mettre en œuvre un plan d'actions – quelles qu'elles soient – en cas de dépassement de la valeur limite d'exposition pour un composé donné.

les effets sur les écosystèmes seront également développées dans cet état des lieux. Dans la continuité de ce travail, l'Anses a mis en application les recommandations issues de l'état des lieux en vue d'élaborer des VGAI pour un mélange d'aldéhydes élargi à d'autres substances irritantes présentes dans l'air intérieur. Les réflexions sont structurées selon les recommandations du rapport méthodologique et permettent d'éprouver les possibilités d'application des modèles existants. En complément, suite à une saisine de la DGS et de la Direction de la prévention des risques (DGPR), l'Anses a proposé une méthode d'élaboration de VTR pour les mélanges et l'a appliquée au mélange benzène, éthylbenzène, toluène et xylènes (BTEX). Ces travaux font l'objet de 2 autres rapports publiés conjointement au présent document.

Plus largement, les enseignements issus de ces différents travaux ont vocation à alimenter les réflexions sur l'élaboration de méthodes pour la prise en compte des effets des mélanges au sein de l'Agence, notamment dans le cadre de la mise à jour du guide méthodologique pour la construction de valeurs de référence.

1.3 Modalités de traitement : moyens mis en œuvre et organisation

L'Anses a nommé deux experts rapporteurs *intuitu personae* entre 2016 et 2018 membres chacun des 2 comités d'experts spécialisé (CES) impliqués dans l'expertise sur les valeurs de référence pour la réalisation de ces travaux d'expertise :

- le CES « Caractérisation des dangers des substances et valeurs toxicologiques de référence », appelé CES Substances, notamment chargé de l'élaboration de profils toxicologiques pour des substances chimiques en vue de dériver des valeurs de référence (VTR, VLEP, VGAI), devenu au 1er septembre 2017, le CES dédié aux « valeurs sanitaires de référence » qui a la charge de l'élaboration et la validation des diverses valeurs de référence sur lesquelles l'Anses est sollicitée (VTR, VLEP/VLB/VBR, VGAI, DNEL) ;
- le CES « Evaluation des risques liés aux milieux aériens », appelé CES Air, qui est chargé des questions relatives à l'évaluation des dangers et des risques pour la santé humaine (population générale et travailleurs) liés à la qualité des milieux aériens.

Les travaux d'expertise ont été soumis régulièrement aux CES, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport tient compte des observations et éléments complémentaires transmis par les membres de ces CES. Ces travaux ont été discutés en CES VSR entre le 8 décembre 2016 et le 11 mars 2022 et en CES Air entre le 17 décembre 2015 et le 4 octobre 2021. Ils sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

Ce rapport, les conclusions et recommandations, traduits en anglais, ont fait l'objet d'une consultation publique à visée internationale du 7 juin au 19 septembre 2021 inclus. Une mise en consultation publique de ce document en langue française a également été réalisée accompagnée du rapport d'étude de cas appliqué à la construction de VGAI pour un mélange d'aldéhydes élargi à d'autres substances irritantes présentes dans l'air intérieur. Les personnes ou organismes ayant contribué à la consultation publique sont listés en annexe 5. Les commentaires reçus ont été examinés et discutés par le CES VSR qui a adopté cette version finalisée le 11 mars 2022. Un expert du CES VSR s'est abstenu. Sa position est détaillée en annexe 6 du rapport d'expertise collective.

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

La collecte des informations nécessaires à la réalisation de cette expertise a reposé sur la réalisation d'une recherche bibliographique (revues à comité de lecture, ouvrages de référence ou littérature grise) visant à identifier les méthodes proposées pour prendre en compte la question des mélanges dans l'évaluation des risques sur la santé. Cette recherche ne porte en aucun cas sur les connaissances relatives à des interactions pour des mélanges spécifiques.

La revue de la littérature a été faite à partir des bases de données bibliographiques Pubmed, Scopus et Web of science en **mai 2016** ; elle a été actualisée par l'Anses jusqu'en **septembre 2020**. Elle a ciblé les démarches existantes dans le cadre d'évaluation des risques sur la santé. Elle a été complétée par l'identification des rapports d'institution portant sur ce sujet ou sur l'élaboration de valeurs de référence, ainsi que par une description des méthodes spécifiquement développées dans le domaine de l'épidémiologie pour prendre en compte les mélanges en définissant des requêtes dans les bases Scopus et Pubmed avec le concept « exposome ».

Les étapes de la revue de la littérature sont décrites dans la Figure 1 qui retrace les requêtes effectuées dans les bases de données et les organismes ciblés pour la littérature grise pour l'identification des références, suivies des critères pour la sélection des articles pertinents par rapport à la question posée dans cette expertise.

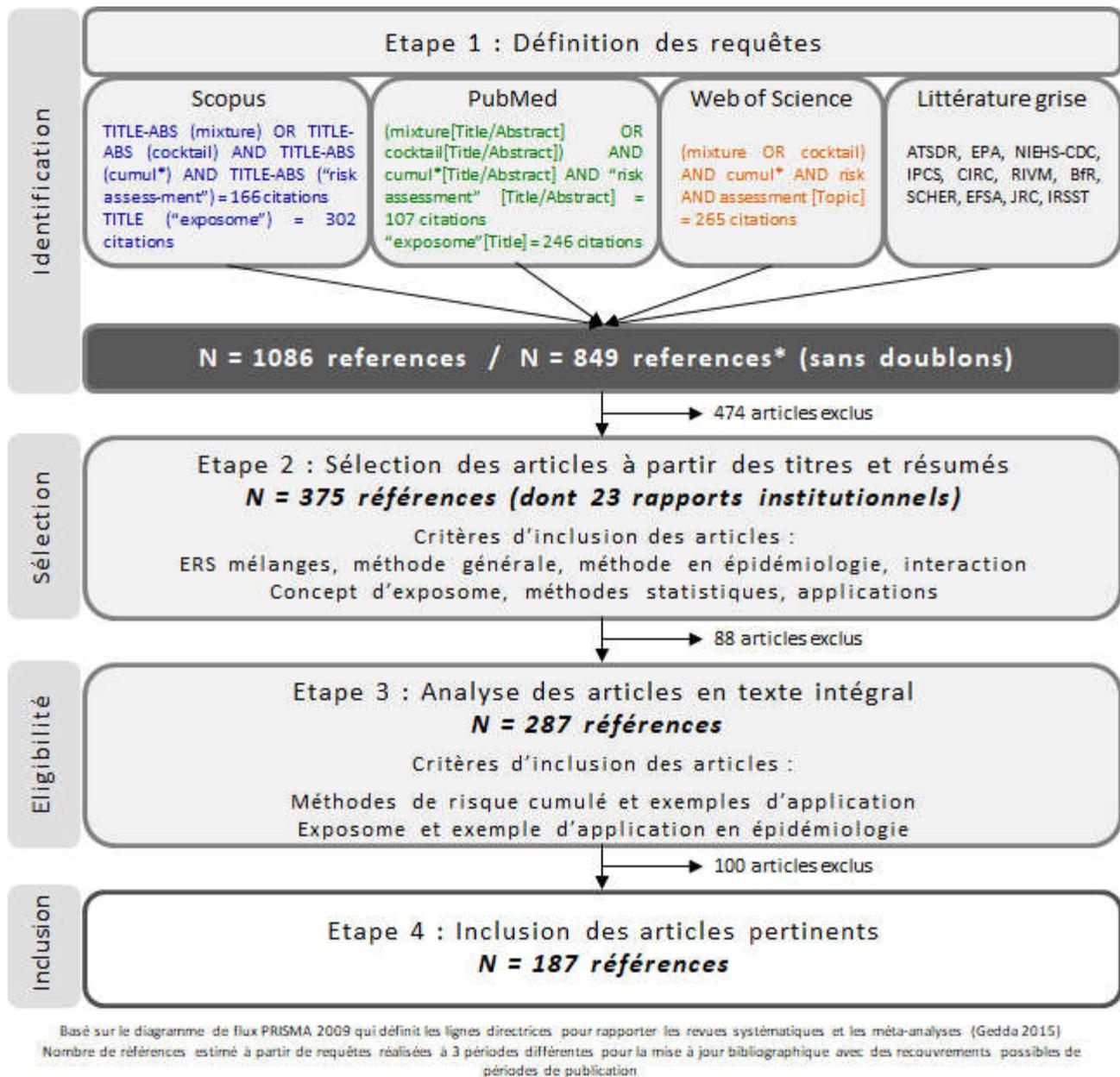


Figure 1 : Etapes de la revue de la littérature suivies pour l'expertise⁷

Concernant les valeurs guides et plus généralement les valeurs de gestion proposées par certaines institutions, les documents de référence pris en compte dans le présent rapport sont principalement des textes réglementaires nationaux inhérents à chaque pays.

L'état des lieux réalisé dans ce rapport a permis de couvrir la réglementation française et celle définie au niveau de l'Union européenne, quelques exemples de réglementations issues d'autres pays ayant fait l'objet de publications en anglais ont été recensés mais sans exhaustivité.

⁷ NB : la littérature grise est ce qui est produit par toutes les instances du gouvernement, de l'enseignement et la recherche publique, du commerce et de l'industrie, sous un format papier ou numérique, et qui n'est pas contrôlé par l'édition commerciale (<https://www.cairn.info/revue-i2d-information-donnees-et-documents-2015-1-page-30.htm#no1>).

1.4 Prévention des risques de conflits d'intérêts

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

2 Prise en compte des mélanges de substances chimiques dans le cadre de valeurs guides existantes

Dans le cadre de la proposition de valeurs guides, et plus généralement de valeurs de gestion, certaines institutions proposent, ou ont proposé à un moment donné de considérer plusieurs contaminants à mesurer simultanément. Ce chapitre décrit les valeurs de gestion, les valeurs guides, qu'elles soient indicatives ou réglementaires, les valeurs limites, ou toutes autres valeurs proposées en vue d'améliorer la qualité des milieux (eau, sol, air, alimentation).

2.1 Eaux destinées à la consommation humaine (EDCH)

La gestion des eaux potables, appelées dans la réglementation française « eaux destinées à la consommation humaine » (EDCH), repose sur les recommandations de l'OMS, les Directives européennes, transposées en droit français, ainsi que sur les dispositions des plans nationaux santé environnement et de lois issues du Grenelle de l'environnement (Pène et Lévi, 2011). La qualité de l'eau destinée à la consommation humaine est définie par le respect de teneurs maximales pour des paramètres individuels ou familles de contaminants, établies pour protéger la santé des consommateurs. Sont distinguées les « limites de qualité » établies principalement sur des critères sanitaires et les « références de qualité » établies notamment à des fins de suivi des installations de production, de distribution et de conditionnement d'eau et pouvant reposer par exemple sur des critères organoleptiques ou de bon fonctionnement des installations de traitement des eaux. Les limites de qualité correspondent pour la plupart aux valeurs guides établies par l'OMS (OMS, 2017) qui représentent généralement « la concentration d'un composant qui ne présente pas de risque significatif pour la santé d'une personne qui consommerait l'eau en question pendant toute sa vie » (Afssa, 2007).

Le Code de la santé publique (article R1321-2), modifié par le décret 2007-49 du 11 janvier 2007 relatif à la sécurité sanitaire des EDCH fixe ces limites de qualité. Celles-ci sont disponibles à l'annexe I de l'arrêté du 11 janvier 2007 modifié transposant la Directive 98/83/CE relative à la qualité de l'eau destinée à la consommation humaine.

La réglementation relative à l'EDCH aborde la question des mélanges pour 4 classes de paramètres associées à des limites de qualité reprises des recommandations de l'OMS et fondées sur des décisions politiques :

- Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) : $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme des concentrations de benzo[b]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène, benzo[g,h,i]pérylène et indéno[1,2,3-cd]pyrène. Cette valeur provient du projet de valeurs guides de l'OMS publiées en 1984. Elle n'était pas basée sur des critères sanitaires mais sur les concentrations maximales mesurées dans les eaux de surface à une époque où les traitements étaient moins efficaces ;
- Les pesticides : $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme des concentrations de tous les pesticides individualisés, détectés et quantifiés. Cette valeur vise à couvrir l'ensemble des substances actives individuelles et leurs métabolites pertinents sur la base notamment de leur toxicité et/ou de leurs propriétés « pesticides » ;

- Le tétrachloroéthylène et le trichloroéthylène : $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme des concentrations de ces deux contaminants. Cette valeur est basée sur une approche de précaution ;
- Les trihalométhanes (THM) : $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme des concentrations du chloroforme, bromoforme, dibromochlorométhane et bromodichlorométhane. Cette valeur est basée sur une approche pratique pour réduire les sous-produits de chloration.

Dans le cadre de la refonte de la directive sur la qualité des EDCH, deux nouvelles sommes de paramètres devraient être introduites concernant :

- Les acides haloacétiques : $60 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme des concentrations en acide chloroacétique, dichloroacétique et trichloroacétique, voire en acide bromoacétique et dibromoacétique dans les cas où des méthodes de désinfection qui peuvent générer des AHA sont utilisées pour la désinfection d'EDCH. A l'instar de la limite de qualité pour la somme des THM, l'introduction de ce paramètre et de la limite de qualité associée vise à réduire les sous-produits de chloration sans compromettre la désinfection de l'eau.
- Les substances alkylées per-et polyfluorées (PFAS) pour lesquelles une valeur paramétrique s'appliquera une fois que des lignes directrices techniques pour la surveillance de ce paramètre auront été élaborées. Les États membres pourront alors décider d'utiliser l'un ou l'autre des paramètres suivants :
 - Total PFAS : $0,50 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme de la totalité des substances alkylées per-et polyfluorées.
 - Somme PFAS : $0,10 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme des substances alkylées per-et polyfluorées considérées comme préoccupantes pour les EDCH⁸.

Plus largement, concernant la politique dans le domaine de l'eau, certaines familles de substances, notamment persistantes dans les eaux de surface, sont visées par des normes de qualité environnementale (NQE) selon la Directive cadre sur l'eau (2000/60/CE). Ces NQE visent à protéger les organismes sédimentaires et les organismes aquatiques de la colonne d'eau, de la toxicité directe des substances ou indirecte par empoisonnement secondaire (composante environnementale). Elles protègent également la santé humaine de la toxicité des substances sur l'eau brute destinée à la consommation humaine ou l'empoisonnement secondaire par consommation d'organismes éventuellement contaminés (composante sanitaire). La réglementation reste basée sur l'évaluation des substances individuellement. En effet, l'utilisation des NQE n'est pas adaptée à la toxicité potentielle du mélange car elles sont établies pour des cibles différentes selon les substances (Kortenkamp *et al.*, 2019).

2.2 Alimentation humaine

Dans le cadre de la gestion des risques sanitaires liés aux contaminants alimentaires (résidus de pesticides, additifs alimentaires, ...), l'EFSA publie des doses journalières admissibles (DJA) ou tolérables (DJT) dont certaines sont applicables à des mélanges de composés. Ces valeurs reposent sur des bases toxicologiques uniquement.

⁸ Acideperfluorobutanoïque (PFBA), acide perfluoropentanoïque (PFPeA), acide perfluorohexanoïque (PFHxA), acide perfluoroheptanoïque (PFHpA), acide perfluorooctanoïque (PFOA), acide perfluorononanoïque (PFNA), acide perfluorodécanoïque (PFDA), acide perfluoroundécanoïque (PFUnDA), acide perfluorododécanoïque (PFDoDA), acide perfluorotridécanoïque (PFTrDA), acide perfluorobutanesulfonique (PFBS), acide perfluoropentanesulfonique (PFPeS), acide perfluorohexane sulfonique (PFHxS), acide perfluoroheptane sulfonique (PFHpS), acide perfluorooctane sulfonique (PFOS), acide perfluorononane sulfonique (PFNS), acide perfluorodécane sulfonique (PFDS), acide perfluoroundécane sulfonique, acide perfluorododécane sulfonique, acide perfluorotridécane sulfonique

C'est le cas par exemple pour :

- Les parabènes : $0,10 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour la somme du méthyl-, de l'éthylparabène et de leurs sels de sodium, faisant le constat que ces deux parabènes n'ont pas de propriétés œstrogéniques (à la différence du propylparabène, qui est donc étudié à part) (EFSA 2004a) ;
- Les organo-étains : $0,25 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour la somme des tributylétain (TBT), dibutylétain (DBT), triphénylétain (TPT) et di-n-octylétain (DOT), constatant une immunotoxicité similaire avec même mode d'action pour ces contaminants (EFSA, 2004b) ;
- Les dioxines : $0,2 \text{ pg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ pour la somme des dioxines et PCB dioxin-like (ou $0,1 \text{ pg.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ en ne considérant que les dioxines) en pondérant par leur facteur d'équivalence toxique (TEF) publié par l'OMS (*WHO-TEF*) (EFSA, 2012).

Certaines de ces valeurs limites sont reprises dans la réglementation.

Dans le domaine de l'alimentation, un résidu est une substance présente sur ou dans un produit alimentaire, suite à l'application de produits pesticides, biocides ou à l'utilisation de médicaments vétérinaires. Le règlement (CE) n°396/2005 définit les limites maximales applicables aux résidus (LMR)⁹ de pesticides dans l'alimentation humaine et animale pour chaque substance active phytopharmaceutique actuellement autorisée ou interdite. Le règlement CE n°1881/2006 porte sur les teneurs maximales pour certains contaminants et introduit la notion de facteurs d'équivalence toxique (TEF) pour faciliter les contrôles réglementaires (Section 5 de l'Annexe du règlement CE n°1881/2006).

L'Anses a étudié la faisabilité de l'établissement d'une limite maximale globale de pesticides dans les aliments visant à protéger le consommateur de l'effet cumulé de ces substances (Anses, 2017b) Elle conclut que la fixation d'une LMR « globale » ne pourrait s'appliquer avec pertinence que si l'on vise l'absence de tout résidu dans les denrées alimentaires. Elle réduirait l'évaluation des expositions à une substance ou un groupe de substances à la seule mesure de leur teneur, sans intégrer totalement la notion de risque associé qui seule permet d'assurer la protection de la santé humaine. Ce travail encourage à l'accélération des développements de méthodologies d'évaluation du risque cumulé.

2.3 Sites et sols pollués

Dans le cadre de la réglementation liée aux sites et sols pollués aux Pays-Bas (*Dutch Soil Protection Act*), des valeurs guides de qualité des sols (valeurs d'intervention ou valeurs cibles) ont été proposées sur la base des risques pour la santé humaine et pour les écosystèmes afin de classer les sites en fonction de leur contamination (Swartjes, 1999). Pour ce qui concerne la santé humaine, elles sont fondées sur les MPR (maximum permissible risk levels) proposés en 1991 et ré-évalués en 2001 puis 2009 par l'Institut national néerlandais de la santé publique et de l'environnement (*Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu - RIVM*) (RIVM, 2001 ; 2009). Dans ce cadre, des valeurs limites ont été proposées pour des mélanges de composés (les valeurs sont données en

⁹ LMR définit comme « une concentration maximale du résidu d'un pesticide autorisée dans ou sur des denrées alimentaires ou aliments pour animaux, fixée conformément au présent règlement, sur la base des bonnes pratiques agricoles et de l'exposition la plus faible possible permettant de protéger tous les consommateurs vulnérables ».

mg.kg⁻¹ de matière sèche). Les valeurs cibles suivantes ont été déclinées dans la réglementation (Cirulaire 2000¹⁰):

- Les HAP : la somme des concentrations de 10 HAP¹¹ ne doit pas dépasser la valeur de 1 mg.kg⁻¹;
- Les chlorobenzènes et les chlorophénols : 0,03 mg.kg⁻¹ pour la somme des mono- à hexachlorobenzène, 0,01 mg.kg⁻¹ pour la somme des mono- à pentachlorophénols ;
- Les PCB : 0,02 mg.kg⁻¹ pour la somme des congénères (28, 52, 101, 138, 153, 180) ;
- Les organo-étains : 0,001 mg.kg⁻¹ pour la somme des TBT, DBT et TPT ;
- Certains pesticides organochlorés : 0,005 mg.kg⁻¹ pour la somme aldrine + dieldrine + endrine, et 0,01 mg.kg⁻¹ pour la somme des DDT, DDE et DDD (sur la base d'une toxicité hépatique similaire) ;
- Les phtalates : la valeur de 0,1 mg.kg⁻¹ est fournie pour la somme de tous les phtalates.

En France, la réglementation ne définit pas de valeurs limites similaires à celles des Pays-Bas. La méthodologie de gestion des sites et sols pollués a été actualisée en 2017 après 10 années de mise en œuvre. Des valeurs d'analyse de la situation peuvent être définies pour différents milieux : le sol, les gaz du sol, l'air intérieur et l'air extérieur. Concernant la qualité des sols, seuls les métaux et métalloïdes individuellement sans considérer de spéciation ni de mélanges sont abordés avec la présentation des gammes de valeurs couramment observées dans les sols « ordinaires » d'après une étude de l'institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (INRAE, anciennement INRA).

2.4 Air ambiant

Les politiques publiques au niveau communautaire relatives à l'air ambiant visent le développement et la mise en œuvre de moyens pour améliorer la qualité de l'air (contrôle des émissions de sources mobiles et non mobiles, qualité des carburants, protection environnementale dans les secteurs des transports et de l'énergie).

Dans le cadre des émissions de plusieurs secteurs d'activité, des objectifs de réduction des émissions de différents polluants dont les composés organiques volatils (COV) et dioxines-furanes sont définis :

- La directive n°99/13 du 11 mars 1999 relative aux émissions de COV dues à l'utilisation de solvants a imposé des valeurs limites par secteur d'activité pour les émissions canalisées et diffuses de COV. Ainsi, par exemple, l'arrêté du 1^{er} juin 2010 relatif aux émissions de toute nature des installations classées pour l'environnement (ICPE) mentionne une valeur limite de 20 mg.m⁻³ pour un groupe de plus de 40 COV en raison de leur contribution à la formation de l'ozone troposphérique (ozone dans l'atmosphère la plus proche du globe).
- La directive européenne 2000/76/CE du 4 décembre 2000 relative à l'incinération des déchets fixe une valeur limite à l'émission de 0,1 ng.m⁻³ pour les dioxines et furanes, en pondérant les concentrations par leur TEF respectif.

¹⁰

https://www.esdat.net/Environmental%20Standards/Dutch/annexS_I2000Dutch%20Environmental%20Standards.pdf

Il n'est pas présenté les valeurs d'intervention sur lesquelles se basent la gestion de la remédiation des sols.

¹¹ Naphtalène, anthracène, phénanthrène, fluoranthène, chrysène, benzo[a]pyrène, benzo[a]anthracène, benzo[ghi]pérylène, benzo[k]fluoranthène, indéno[1,2,3-cd]pyrène.

- La directive 2010/75/UE de 2010 sur les émissions industrielles et la directive 2001/80/CE de 2001 sur les émissions dans l'atmosphère en provenance des grandes installations de combustion visent la prévention et la réduction de la pollution. La directive 2016/2284 sur les plafonds d'émission nationaux fixe pour chaque pays des plafonds d'émission maximaux annuels pour cinq polluants dont les composés organiques volatils non méthaniques. Ces engagements reprennent ceux déjà pris par les Etats-Membres au niveau international dans le cadre notamment du protocole de Göteborg.

L'évaluation et la gestion de la qualité de l'air ambiant est fondée sur la directive 2008/50/CE et en particulier le respect de valeurs limites dans l'air ambiant fixées pour les principaux polluants et notamment pour les HAP par la directive 2004/107/CE. Seul le benzo[*a*]pyrène (B[*a*]P) fait l'objet d'une valeur cible spécifique mais la surveillance de la qualité de l'air doit permettre d'évaluer la contribution du B[*a*]P dans l'air ambiant par rapport à d'autres HAP qui au minimum comprennent le benzo[*a*]anthracène, le benzo[*b*]fluoranthène, le benzo[*j*]fluoranthène, le benzo[*k*]fluoranthène, l'indéno[1,2,3-*cd*]pyrène et le dibenz[*a,h*]anthracène.

2.5 Environnement intérieur

Depuis le 1^{er} janvier 2012, les produits de construction et de décoration sont soumis à l'obligation réglementaire de disposer d'une étiquette qui indique leur niveau d'émission en certains composés chimiques (Décret 2011-321 ; articles Art.R. 221-22 à R221-28 du code de l'environnement). Dix composés sont pris en compte dans l'étiquetage, mais une valeur limite à l'émission pour les COV totaux (COVT)¹² de 1 mg.m⁻³ est également exigée pour pouvoir bénéficier d'une catégorie A+ (cf. Annexe 1 de l'arrêté du 19 avril 2011 relatif à l'étiquetage des produits de construction ou de revêtement de mur ou de sol et des peintures et vernis sur leurs émissions de polluants volatils). La concentration en COVT est couramment utilisée comme indicateur global de la teneur en COV des émissions des produits de construction mais ce paramètre n'a pas de valeur sanitaire en soi (Anses, 2009).

2.6 Synthèse

Le Tableau 1 décrit de façon succincte les valeurs guides recensées dans le cadre de cette expertise et les éléments recueillis sur les modalités de construction afin de faire ressortir s'il s'agit de critères sanitaires, de gestion ou encore métrologique.

Tableau 1 : Synthèse des critères d'élaboration des valeurs guides recensées

| | Type de valeurs | Critères d'élaboration |
|--|-----------------------------------|--|
| Eaux destinées à la consommation humaine | Valeurs limites pour les mélanges | Critères de gestion : décision politique |
| Alimentation | Valeurs limites pour les mélanges | Critères sanitaires |
| Sol | Valeurs cibles pour les mélanges | Critère de risque pour les écosystèmes |

¹² COVT correspond à la somme des concentrations de COV, dont l'élution se produit entre le n-hexane et le n-hexadécane inclus, qui sont détectés selon la méthode de la norme ISO 16000-6 constituant un premier niveau de caractérisation des émissions en COV d'un produit dans une approche globale.

| | | |
|-------------------------|----------------------------|---|
| Air ambiant | Valeur limite à l'émission | Critères de gestion : décision politique (émission) |
| | Valeur cible dans l'air | Critères sanitaires pour le benzo(a)pyrène (surveillance) |
| Environnement intérieur | Valeur limite à l'émission | Critères de gestion : décision politique |

A ce jour, parmi les milliers de substances chimiques potentiellement au contact de l'Homme, peu de valeurs guides sont proposées pour des mélanges. Les valeurs guides ou limites existantes sont parfois proposées sur la base d'approches très pragmatiques, sans pour autant que les fondements scientifiques soient clairement explicités. Ainsi, il est apparu nécessaire dans le cadre de cette expertise de réaliser une recherche bibliographique sur les approches d'évaluation du risque cumulé (ERC) dans leur ensemble. C'est l'objet du chapitre suivant.

3 Prise en compte des mélanges pour la démarche d'évaluation des risques

3.1 Introduction

Dès les années 1970, la nécessité d'évaluer le risque global lors d'expositions multiples a été mise en avant, tenant compte du fait que la population était progressivement exposée à de multiples substances chimiques. Cependant, l'évolution des méthodes d'analyse de risque a progressé lentement par manque de connaissances scientifiques, de techniques adéquates et de financement pour cette recherche (Bopp *et al.* 2019). En 1986, l'Agence américaine de protection de l'environnement (*United States Environment Protection Agency - US EPA*) a publié des lignes directrices pour l'analyse des risques liés aux mélanges (US EPA, 1986), qui ont par la suite évolué au vu de l'amélioration des connaissances en 2000 puis en 2006 (US EPA, 2000, 2006). Dès le début des années 2000, les méthodes d'évaluation du risque cumulé (ERC) ont fait l'objet d'une attention particulière au sein de nombreuses institutions gouvernementales (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment, 2002 ; Danish Veterinary and Food Administration, 2002, 2003 ; Union Européenne, 2005, 2007, 2009 ; Canadian Environmental Assessment Agency, 2007) incluant l'Union Européenne et, à une échelle plus large, l'OMS (OMS, 2008, 2010).

D'un point de vue toxicologique, lorsque la question des mélanges est prise en compte, deux principes en lien avec les actions biologiques peuvent se présenter :

- 1) **L'additivité** : dans le cas particulier où certains des effets des substances sont semblables, ceux-ci peuvent être liés à des mécanismes communs ou indépendants, conduisant à suggérer soit une **additivité des doses**, soit une **additivité des réponses** ;
- 2) **L'interaction** : lorsque l'effet de deux substances ne peut pas être prédit par le principe de l'additivité, le terme interaction(s) est employé. Il peut s'agir d'interactions positives : **synergie**, ou négatives : **antagonisme**.

Dès l'origine, et encore actuellement, l'ERC considère des mélanges « simples » de contaminants ayant des modes d'action semblables, en utilisant l'hypothèse simplifiée d'additivité pour évaluer les risques.

L'approche d'**additivité des doses** implique que les substances du mélange agissent sur une même cible biologique (cellule ou organe) et par un même mode ou mécanisme d'action, et que seul le potentiel toxique diffère. Ainsi, la toxicité de chaque substance est approximée relativement à une autre de manière quantitative : on considère que la dose du mélange (D_{mix}) est équivalente à la somme des doses ajustées de chaque constituant (aD_i) selon l'équation simplifiée suivante :

$$D_{\text{mix}} = \sum_{i=1}^n aD_i \quad (\text{A})$$

où aD_i correspond à la dose ajustée (pondérée par le potentiel toxique de la substance).

L'**additivité des réponses** suggère que les constituants d'un mélange agissent indépendamment les uns des autres et que c'est la réponse du mélange (ou probabilité d'apparition de l'effet) qui peut

être prédite à partir de la réponse de chacun des constituants. On peut l'exprimer selon l'équation suivante :

$$E(D_{\text{mix}}) = \prod_{i=1}^n (1 - E(D_i)) \quad (\text{B})$$

Si l'effet diminue en fonction de la dose ou concentration (e.g. si des données de survie sont considérées).

$$E(D_{\text{mix}}) = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - E(D_i)) \quad (\text{C})$$

Si l'effet augmente en fonction de la dose ou concentration (e.g. si des données de mortalité sont considérées).

où $E(D_{\text{mix}})$ est l'effet à la dose du mélange et $E(D_i)$ l'effet du constituant à la dose i .

Le modèle d'additivité intégrée est un modèle intermédiaire qui intègre les approches d'additivité des doses et des réponses (Kortenkamp & Faust, 2010 ; Rider & LeBlanc, 2005 ; Rider *et al.*, 2010). La méthode est basée sur le regroupement des substances ayant le même mécanisme d'action puis une dose totale est calculée pour chaque groupe en utilisant le modèle d'additivité des doses. Les groupes sont ensuite combinés en utilisant le modèle d'additivité des réponses *via* l'équation mathématique suivante :

$$R = 1 - \prod_{i=1}^N \left\{ 1 - \frac{1}{1 + \frac{1}{\left(\sum_{i=1}^n \frac{D_i}{ED_{50i}}\right)^{p'}}} \right\} \quad (\text{D})$$

Où R est la réponse du mélange, D_i la concentration de la substance i dans le mélange, ED_{50} la concentration en substance i qui cause 50 % de la réponse, et p' la pente de la courbe dose-réponse de Hill.

Ces concepts sont tous basés sur l'absence d'interaction et considèrent donc que chaque constituant du mélange n'a pas d'influence sur la toxicité des autres constituants. Si cette hypothèse est simplifiée au regard de la réalité des mécanismes toxicologiques, elle reste considérée comme plausible pour les expositions environnementales aux faibles doses. Des études ont testé le modèle d'additivité pour différents mélanges (US EPA, 2000 ; Rider & LeBlanc, 2005 ; SCHER, 2011 ; Boobis *et al.*, 2011 ; Orton *et al.*, 2014 ; Scholze *et al.*, 2014) montrant que ce modèle prédit raisonnablement la toxicité des mélanges ayant des propriétés toxicologiques semblables sur un organe ou système cible. Le modèle d'additivité des doses serait plus protecteur que le modèle d'additivité des réponses (Christiansen *et al.*, 2009 ; Orton *et al.*, 2014). Boobis *et al.* ont par ailleurs estimé, à partir de 11 études que l'ampleur de l'interaction générerait des résultats déviant de 1,5 à 3,5 fois par rapport aux prédictions des modèles d'additivité (Boobis *et al.*, 2011). Un facteur 3 a également été identifié dans l'étude de Christiansen *et al.* (2009) pour l'induction de malformations de l'appareil génital mâle lors d'exposition *in utero* à des substances anti-androgéniques.

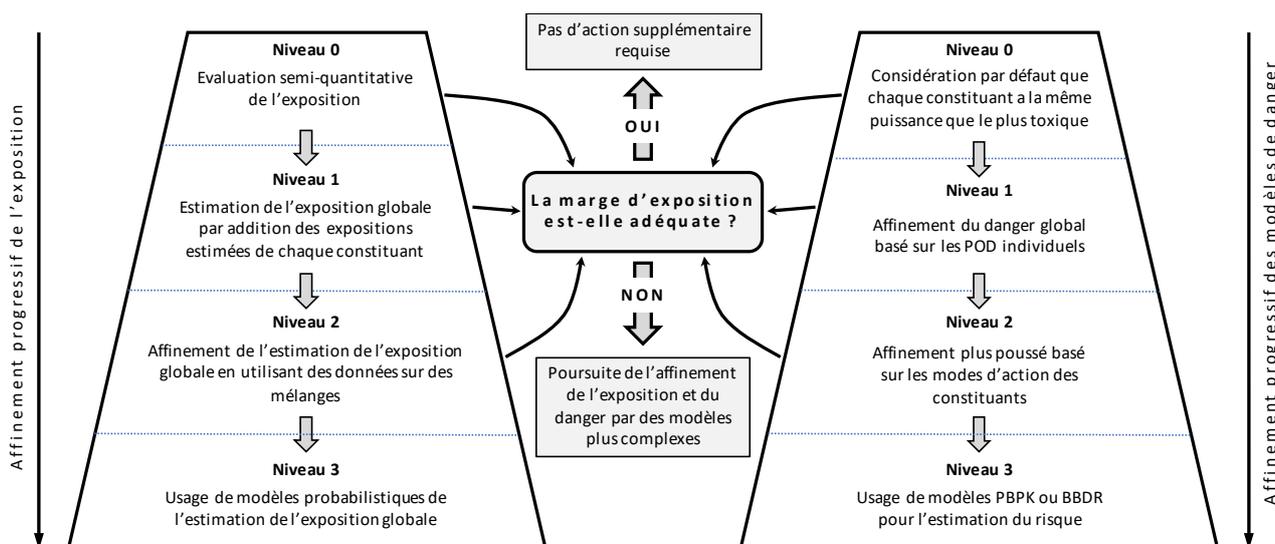
Ainsi, il est fait l'hypothèse qu'aux faibles doses, une interaction (synergie ou antagonisme), si elle se produit, reste peu susceptible de générer un résultat différent de l'additivité au regard des incertitudes inhérentes à la démarche même d'évaluation des risques. Dans la pratique, l'interaction est donc négligeable.

Pour autant, les connaissances actuelles sur les mélanges ne permettent pas de vérifier l'absence d'interaction dans tous les cas de figure. L'hypothèse par défaut de l'additivité ne devrait donc pas être utilisée systématiquement et ne pas se substituer à la connaissance de cas particuliers d'interactions, comme cela a été démontré pour certains pesticides organophosphorés en mélange avec un co-formulant inhibiteur du cytochrome P450 (CYP P450) (Rider and LeBlanc, 2005).

L'hypothèse susmentionnée conduisant à retenir l'additivité est aujourd'hui recommandée par certaines institutions d'évaluation des risques (EFSA, 2013a et 2013b ; US EPA, 2006).

Dès 2009, le rapport décrivant l'état de l'art scientifique et réglementaire de la prise en compte des mélanges en toxicologie demandés par la Commission européenne (Kortenkamp *et al.*, 2009) précisait le besoin d'évaluer les risques liés aux mélanges et de développer un savoir-faire suffisant pour les prendre en compte. Les auteurs recommandaient ainsi, en plus des besoins de recherche sur la question, d'explorer les options pour prendre en compte les mélanges (par exemple en partant de la contamination des milieux), et d'utiliser l'hypothèse d'additivité des doses par défaut comme première approche. Ce type de procédure par étapes successives ou « par paliers » (*tiered approach*) a d'ailleurs été proposée par l'OMS en 2011 pour progresser dans l'ERC en fonction des connaissances de l'exposition et du danger associé (Figure 2) et par l'Agence européenne de sécurité des aliments (*European Food Safety Authority – EFSA*) dès 2013 (EFSA, 2019a).

Les enjeux identifiés par la Commission européenne visent justement à améliorer les connaissances (i) sur les dangers, par la compréhension des mécanismes et le développement de modélisations pour étudier les interactions, mais également (ii) sur la caractérisation de l'exposition (Bopp *et al.*, 2019).



PBPK : physiology based pharmacokinetics; BBDR : biologically based dose-response.

Figure 2 : Schéma de progression de l'ERC en fonction de l'affinement de l'exposition et des dangers associés (Meek *et al.*, 2011)

Rotter *et al.* (2018) relèvent que des recommandations différentes ressortent dans les réglementations mises en œuvre au niveau de l'Union européenne, des Etats-Unis et du Canada, notamment selon le domaine d'utilisation des substances ou les réglementations sectorielles. Ces observations soulignent le manque d'approches ou de méthodes harmonisées. Ces différences portent notamment sur l'approche méthodologique recommandée dans les cas de substances ayant des modes d'action indépendants ou des mélanges avec interaction. L'approche harmonisée la plus avancée concerne l'exposition cumulée aux pesticides aux Etats-Unis et au Canada. Le projet européen SOLUTIONS (Kortenkamp *et al.*, 2019) encourage l'acquisition de données pour l'ensemble des polluants et incite à l'inscription du cadre méthodologique dans les différentes réglementations sur les substances chimiques notamment le règlement REACH, sur les produits phytopharmaceutiques et biocides.

La Commission européenne s'est engagée en 2020 dans le cadre de la stratégie pour la durabilité dans le domaine des produits chimiques à évaluer la meilleure façon d'introduire dans la réglementation REACH l'évaluation des mélanges non intentionnels, dont les co-expositions ne sont pas connues *a priori* (EC, 2020). Elle s'oriente sur une approche pragmatique, plus conceptuelle reconnaissant l'exposition à de multiples polluants, à prendre en compte dans l'évaluation des risques d'une substance unique via l'application d'un facteur intitulé « Mixture assessment factor – MAF ». Celui-ci est proposée par différents auteurs et organismes (Kortenkamp & Faust, 2010 ; Martin *et al.*, 2013 ; KEMI, 2015, 2020) pour évaluer le risque des mélanges lorsque les données sont insuffisantes pour caractériser les situations de co-exposition ou leurs effets sur la santé. Pour contribuer aux discussions sur l'application de ce facteur dans la réglementation, un algorithme a été établi à partir des évaluations publiées sur les risques de mélange pour estimer la valeur de ce facteur MAF (KEMI, 2020).

Au niveau français, les travaux de l'Anses visant à évaluer les risques liés aux produits phytopharmaceutiques, aux EDCH et à l'alimentation humaine ont pris en compte dans certains cas l'exposition à des mélanges de contaminants. Ces derniers sont détaillés en Annexe 1.2 et 1.3. De plus, la prise en compte des mélanges est recommandée dans le cadre de la gestion des installations classées pour l'environnement (ICPE) et des sites et sols pollués selon les guides méthodologiques récemment actualisés (cf. Annexe 1.4 et 1.5).

Plus récemment, la Société Française de Santé Environnement (SFSE), sur la base de l'ensemble de ces travaux, recommandait également d'utiliser les approches d'ERC existantes, avec : i) une prise en compte itérative des mélanges en évaluation des risques sanitaires, ii) une communication, une analyse et une reconnaissance institutionnelle des valeurs toxicologiques de référence (VTR) « mélange » publiées dans la littérature, et iii) la réalisation de profils toxicologiques pour certaines co-expositions fréquentes (SFSE, 2013).

La première étape pour toute ERC consiste à répondre successivement aux questions fondamentales suivantes (Sexton and Hattis, 2007; Rice *et al.*, 2008).

- (i) quels mélanges de contaminants sont les plus pertinents en termes de santé publique ?
- (ii) quelle est la nature et l'intensité de l'exposition des populations identifiées ?
- (iii) quels sont les mécanismes et les conséquences des interactions possibles sur la santé humaine ?

Il peut s'agir de formuler la problématique et les objectifs de l'ERC et d'identifier toutes les phases critiques de l'évaluation (Solomon *et al.*, 2016) mais également d'évaluer des options de mesures

de gestion (notamment interventionnelles) pouvant être mises en place avec l'implication des parties prenantes (MacDonell *et al.*, 2018 ; EFSA, 2019a).

Il s'agit, en première intention, et avant même de sélectionner une méthode appropriée, d'identifier les mélanges les plus pertinents à prendre en compte. Cette question est développée dans le chapitre suivant.

3.2 Etape de regroupement

Les choix ou le regroupement des contaminants à prendre en compte quand on s'intéresse aux mélanges se font généralement selon quatre démarches complémentaires: i) selon la famille chimique pour les substances ayant une similitude de structures et de mécanismes d'action ; ii) selon un effet sanitaire commun ; iii) selon l'exposition réelle de la population ; iv) en combinant des approches de contaminations/expositions dans l'environnement et d'effets communs.

3.2.1 Regroupements des contaminants selon leurs familles chimiques

C'est la première démarche qui a été mise en œuvre lorsqu'on s'est intéressé aux mélanges. L'exemple historique de regroupement le plus connu dans le cadre de l'évaluation du risque cumulé pour l'aide à la décision concerne 29 molécules de la famille chimique des dioxines (n=17) et de certains congénères de polychlorobiphényles (PCB) (n=12, nommés d'ailleurs « *dioxin-like* ») à partir de relations structure - activité basées sur un mécanisme moléculaire commun de liaison au récepteur aux hydrocarbures aromatiques (AhR) (Safe, 1984 ; Safe *et al.*, 1985 ; Eadon *et al.*, 1986). Dans l'étude sur l'alimentation totale infantile (Anses, 2016b), cette approche (furanes + dioxines + PCB-DL) a été considérée comme insuffisante, notamment en raison du fait qu'il existe un grand nombre de substances présentes dans l'alimentation (autres que les furanes, dioxines et PCB-DL) qui agissent également sur le récepteur AhR.

A ce jour, l'évaluation des risques s'intéresse aussi à d'autres familles chimiques. C'est le cas par exemple des phtalates (NRC, 2008), des perfluorés (Borg *et al.*, 2013), des HAP (Nisbet and LaGoy, 1992 ; Audebert *et al.*, 2012), des pyréthrinoïdes (US EPA, 2011) ou des organophosphorés (US EPA, 2006b). Néanmoins, pour ces évaluations, l'étape de choix des contaminants n'est pas explicitement précisée (excepté qu'il s'agit de familles chimiques constituées de substances ayant une structure proche).

3.2.2 Regroupements des contaminants selon un effet ou mécanisme d'action commun

Le regroupement des contaminants selon un effet commun s'est développé ces dernières années principalement sur la base des travaux du NRC sur l'anti-androgénicité des phtalates (NRC, 2008). Ainsi par exemple, Kortenkamp & Faust (2010) ont sélectionné, dans le cadre d'une évaluation des risques reprotoxiques, de nombreux contaminants de différentes familles chimiques, tous suspectés d'être anti-androgènes (phtalates, pesticides dont fongicides, herbicides et organochlorés, parabènes, polybromodiphényléthers (PBDE) ou encore bisphénol A).

L'EFSA et le groupe scientifique sur les produits phytopharmaceutiques et leurs résidus (*PPR Panel*) ont commencé, dès 2007, à élaborer des méthodologies d'évaluation du risque cumulé (CRA pour *cumulative risk assessment* en anglais) liés aux résidus de pesticides. Ces développements méthodologiques ont donné lieu, en 2013, à la proposition d'une procédure visant à établir des groupes d'évaluation cumulée (CAGs pour *cumulative assessment group*) de pesticides sur la base de leur profil toxicologique (EFSA, 2013a). La méthodologie générale propose de regrouper les

substances ayant des effets spécifiques communs sur différents organes ou systèmes (par exemple, reproducteur, respiratoire...) à partir de l'étude des effets individuels par voie orale. L'EFSA a appliqué cette méthode dans un premier temps pour l'établissement de CAGs de pesticides ayant des effets sur la thyroïde et le système nerveux mais a pour objectif de l'étendre à d'autres effets sanitaires.

La démarche peut être décomposée en 4 étapes principales: 1) identification des effets spécifiques pertinents à considérer en vue de réaliser une évaluation du risque cumulé ; 2) caractérisation des effets spécifiques ; 3) collecte des données toxicologiques ; 4) établissement de CAGs. Le regroupement des substances est réalisé selon une approche par palier. Le premier niveau de regroupement (niveau 1) comprend toutes les substances affectant le système ou l'organe considéré (ex : substances ayant un effet sur le système hormonal thyroïdien). En fonction des données disponibles, il est ensuite possible d'affiner les regroupements selon les effets spécifiques communs des contaminants (niveau 2), leurs modes d'action (niveau 3) ou leurs mécanismes d'action (niveau 4) (EFSA, 2013a, 2013b, 2019b, 2019c, Kennedy *et al.*, 2020, Sprong *et al.*, 2020 ; Zoupa *et al.*, 2020).

Dans le même temps, les travaux de Fournier *et al.* (2014a) ont proposé un schéma conceptuel intégré à l'étape d'identification des dangers pour regrouper les contaminants et recommander ensuite une méthodologie d'évaluation du risque, adaptée au niveau d'information disponible sur leurs effets toxiques aux différentes échelles du vivant, i.e. au niveau systémique, organique cellulaire ou macromoléculaire (Figure 3).

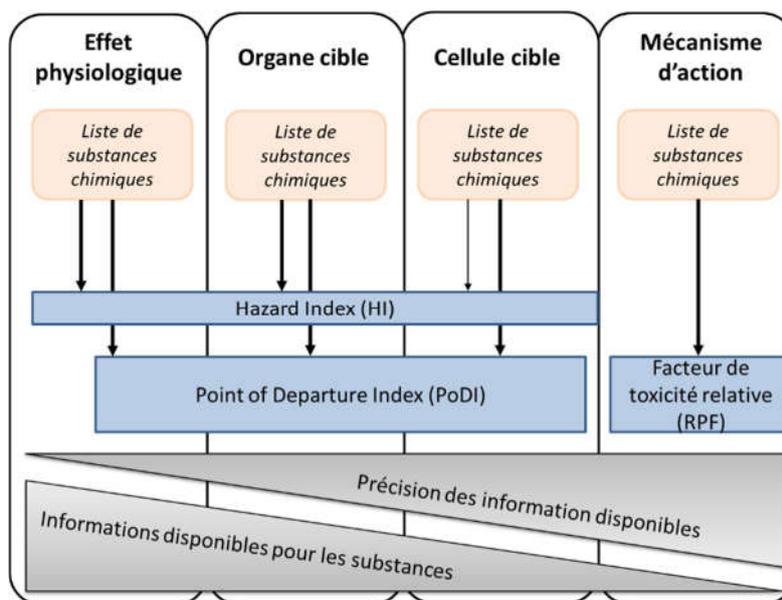


Figure 3 : Principe du schéma conceptuel de Fournier *et al.*, (2014a) pour la réalisation d'une évaluation du risque cumulé selon la précision des données disponibles pour les substances aux différents niveaux hiérarchiques du vivant (traduit d'après Fournier *et al.*, 2014a)

Ce type de regroupement des substances pour des événements clés communs en amont de l'effet néfaste est encouragé par le développement des « Adverse Outcome Pathway - AOP » (EFSA, 2021). A titre d'exemple, Kortenkamp (2020) a mis en avant l'inclusion de substances additionnelles, en plus de la famille des phtalates, pour l'évaluation du risque cumulé pour la santé reproductive masculine. A partir de l'analyse du réseau d'AOP pour les malformations de l'appareil reproducteur

masculin, il est proposé d'inclure les substances capables de perturber la synthèse des stéroïdes, la production d'InsL3 et la signalisation des prostaglandines¹³.

Christiansen *et al.*, (2020) ont étudié si des mélanges de substances chimiques ayant des modes d'action endocriniens différents peuvent avoir des effets combinés sur des paramètres hormonosensibles (réduction de la distance ano-génitale). Des rats Wistar ont été exposés pendant la gestation et la lactation à un mélange de bisphénol A et de butylparaben, à un mélange de phtalate de diéthylhexyle et de procymidone ou à un mélange des quatre substances. Les résultats de cette étude indiquent que plusieurs modes d'action peuvent converger vers un effet sanitaire commun et supportent les travaux de Kortenkamp (2020) suggérant que les CAGs pour l'évaluation des risques liés aux mélanges devraient être définis selon tous les AOPs communs susceptibles d'induire le même effet indésirable.

Plus récemment, Boberg *et al.*, (2021) ont développé un outil Web pour l'évaluation des risques liés aux mélanges. Cet outil intègre l'hypothèse d'additivité des doses et met en œuvre une approche par paliers telle que recommandée par l'EFSA (EFSA, 2019a) (voir 3.3.1.2). Le regroupement des substances est basé sur des effets similaires et considère 6 organes ou systèmes cibles spécifiques. Cet outil comprend une base de données regroupant des informations sur la toxicité et les expositions chroniques (alimentaires et non alimentaires) à plus de 200 substances chimiques présentes dans les aliments et/ou l'environnement.

3.2.3 Regroupements des contaminants selon l'exposition réelle de la population

Le regroupement selon l'exposition réelle de la population est fondé sur la mise en œuvre d'approches statistiques permettant d'identifier des « mélanges types » auxquels sont exposés différentes populations.

Dans le cadre des travaux de l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI), des mélanges types de COV et d'aldéhydes présents dans les logements français en 2003-2005 ont été identifiés (Duboudin, 2010). Un mélange type, observé dans 10 % des logements, correspond à un mélange de sept composés en moyenne, tous en concentrations 2 à 20 fois supérieures à celles de l'échantillon complet. Deux autres mélanges types correspondent à une multipollution moyenne à savoir avec 4 à 7 COV en concentrations environ 2 fois supérieures à celles de l'échantillon complet, l'un des mélanges ayant une prédominance d'hydrocarbures aromatiques et l'autre d'aldéhydes. Puis, dans 24 % des logements du parc, on observe des mélanges caractérisés par un seul COV en forte concentration, 5 à 400 fois supérieure à celle de l'échantillon complet. Huit sous-mélanges ont été identifiés, chacun étant associé à un COV différent : 1,4-dichlorobenzène, n-undécane, 1-méthoxy-2-propanol, styrène, trichloroéthylène, tétrachloroéthylène, 2-butoxyéthanol et formaldéhyde. Enfin, le dernier mélange type (40 % des logements) incluait les composés non détectés ou présents en faibles concentrations.

Un regroupement des contaminants selon l'exposition de la population a été développé dans le cadre d'un projet français relatif aux pesticides (programme de recherche PERICLES). Le but était d'identifier les mélanges types de résidus de pesticides auxquels la population française était la plus exposée via l'alimentation et de tester leurs potentiels effets toxiques. Ainsi, Crépet *et al.* (2013a) ont classé, à l'aide d'une approche bayésienne non-paramétrique, les profils d'exposition de 2624

¹³ Des pesticides (vinclozoline, prochloraz, procymidone, linuron), des analgésiques (paracétamol, aspirine, ibuprofène), des produits pharmaceutiques (finastéride, kétoconazole, simvastine), les dibenzodioxines polychlorées et autres polluants « dioxine-like » ainsi que les composés phénoliques (bisphénol A et butylparabène).

adultes et 1455 enfants à 79 pesticides quantifiés dans au moins 10 % des échantillons (provenant des campagnes de mesures des résidus de pesticides dans l'alimentation), en se basant sur les données individuelles de consommation alimentaire des français (INCA2, Anses 2009). L'étude des corrélations entre les pesticides pour les groupes d'individus les plus exposés a mis en évidence 7 mélanges distincts de 2 à 6 pesticides (Crépet *et al.*, 2013a). Ces travaux ont été poursuivis par la mise en œuvre d'une méthode de factorisation en matrices non négatives combinée à une classification hiérarchique qui à partir des données de l'étude de l'alimentation totale (Anses, 2011) a permis d'identifier des groupes de consommateurs exposés à des mélanges de pesticides (Béchaux *et al.* 2013) et à des mélanges de substances variées (Traoré *et al.*, 2016). Par exemple, un des mélanges contenait dix pesticides, six éléments traces et le bisphénol A. L'exposition à ce mélange était liée à un régime alimentaire composé en majorité de fruits et de légumes consommés par un groupe d'individu composé en majorité de femmes (62%) et ayant en moyenne 51 ans (Traoré *et al.*, 2016). L'identification de ces mélanges types a permis de mettre en œuvre des protocoles d'études toxicologiques spécifiques pour l'étude de mélanges pertinents (Crépet *et al.*, 2013b). Enfin, cette approche a été appliquée sur des données de biomonitoring mesurant la contamination du lait maternel (Crépet *et al.*, 2022) en vue de proposer une approche intégrée de l'évaluation des risques des mélanges.

Plus récemment, Kapraun *et al.* (2017) ont appliqué une technique d'analyse des paniers des consommateurs connue sous le nom de *frequent itemset minning (FIM)* aux données de biomonitoring provenant de l'enquête NHANES américaine 2009-2010 (plus de 10 000 sujets, 106 substances chimiques analysées) pour identifier les combinaisons les plus prévalentes. Ils ont fait ressortir 90 mélanges types présents dans plus de 30 % de la population, représentant par exemple des métaux, des HAP, des parabènes ou la caféine, théophylline et dérivés.

En milieu professionnel il est également possible d'utiliser des approches dites « de classification ou de regroupement » pour identifier les usages ou les expositions de la population de travailleurs en fonction des secteurs d'activité. En France, l'exploitation de la base de données Colchic, qui est un système de collecte des données d'expositions professionnelles mis en œuvre dès 1987, permet d'extraire des données de co-expositions des professionnels. Actuellement, Colchic contient 850 000 résultats pour 70 substances chimiques différentes. Une évaluation des co-expositions réalisée en 2012 a mis en évidence une centaine de co-expositions types comme formaldéhyde et poussières de bois, cobalt et tungstène ou carbone et hydrogène sulfuré. Il est possible de les hiérarchiser en fonction du nombre d'occurrences, de l'activité ou des métiers (Vincent & Clerc, 2012).

La principale limite liée à ces approches concerne le choix des substances qui ont été quantifiées dans les milieux, et qui est lié notamment à la capacité analytique à un moment donné. Il apparaît donc également important de continuer à développer des outils de mesure performants pour les contaminants émergents qui ne font actuellement pas encore l'objet de campagnes de mesure en routine.

3.2.4 Regroupements des contaminants chimiques en combinant les données d'exposition et les effets communs

Les données relatives à la réalité des expositions de la population et à la similitude des effets des substances peuvent avoir de l'importance pour l'évaluation du risque cumulé. Certaines approches proposent de tenir compte à la fois des données d'exposition de la population (ou de contamination d'un environnement) et des effets ou des mécanismes d'action commun.

Sur la base de leur modèle conceptuel (cf 3.2.2), Fournier *et al.*, (2014a) ont regroupé les composés organiques semi-volatils (phtalates, HAP, PBDE, pesticides, PCB...) mesurés dans plus de 10 % des logements français en fonction de leurs effets à différents niveaux hiérarchiques du vivant (échelles clinique à moléculaire). Les contaminants ont été sélectionnés sur la base de campagnes de mesures (poussières déposées et particules de l'air) dans des échantillons de logements français représentatifs de la métropole et d'une revue de la littérature sur les effets et mécanismes d'action. Sept groupes principaux ont été identifiés sur la base de leurs effets sur le système reproducteur ou sur le système nerveux central ; les cinq premiers ayant un mécanisme d'action commun (diminution de la synthèse de testostérone, inhibition de l'INSL 3 (Insulin-Like Factor 3) ou des connexines 43, diminution du niveau de dopamine) et les 2 derniers uniquement un effet cellulaire ou clinique commun (Tableau 2).

Tableau 2 : Groupes de composés organiques semi-volatils identifiés pour des effets sur le système reproducteur ou sur le système nerveux central (Fournier *et al.*, 2014a)

| Groupe | Description | Effets cliniques ou cellulaires | Mécanisme commun |
|----------|--|---------------------------------|------------------|
| Groupe A | DEHP, DiNP, DiBP, BBP, DEP, BDE47, BDE99, BDE100, BPA, lindane, perméthrine, cyperméthrine | Reprotoxicité | Oui |
| Groupe B | DEHP, DBP, DiNP, DiBP, BBP | Reprotoxicité | Oui |
| Groupe C | DEHP, DBP, DiNP, DiBP, BBP, BPA, lindane, dieldrine | Reprotoxicité | Oui |
| Groupe D | BDE47, BDE99, BDE209, BPA, PCB101, PCB153, lindane, perméthrine, cyperméthrine | Neurotoxicité | Oui |
| Groupe E | BPA, PCB101, PCB153, lindane, perméthrine, cyperméthrine | Neurotoxicité | Oui |
| Groupe F | BDE 47, BDE99, BDE100, BDE209, BPA, PCB 101, PCB138, PCB153, lindane, perméthrine, cyperméthrine | Neurotoxicité | Non déterminé |
| Groupe G | DEHP, DBP, DMEP, BPA, lindane | Reprotoxicité | Non déterminé |

De même, Su *et al.* (2014) ont proposé une méthode de factorisation en matrices positives pour identifier des mélanges pertinents à partir des données d'exposition personnelle de la population de 3 villes américaines aux composés organiques volatils de l'étude RIOPA (air intérieur et extérieur) (Weisel, 2005). Dans chacun des mélanges, la contribution de chaque contaminant dans la concentration totale du mélange a été estimée afin de vérifier ou non l'homogénéité (spatiale ou temporelle) du mélange (plus le mélange est homogène, plus il peut être lié à une source bien définie, *a contrario*, il sera lié aux aléas des expositions humaines). Cette approche d'analyse multivariée a permis d'identifier quatre profils de mélanges (COV liés au trafic routier ou à l'environnement intérieur par exemple) et a été complétée par une étude de la littérature sur les effets et modes d'action des substances pour regrouper les COV en vue de l'évaluation des risques de cancers hématopoïétiques, du foie et des reins.

Dans le cadre du projet européen « Euromix », qui vise à construire une stratégie d'évaluation du risque cumulé et agrégé (plusieurs voies et sources d'exposition), une approche basée sur des données d'exposition *via* l'alimentation et de danger en utilisant les CAGs (*cumulative assessment group*) a été développée afin de hiérarchiser les mélanges d'intérêt qui seront étudiés pour leurs effets toxicologiques dans le projet (Crépet *et al.*, 2019). Egalement, l'intégration de l'exposition *via*

l'alimentation et d'autres sources non alimentaires, le traitement des cultures ainsi que leur toxicité relative (RPF) a permis de proposer des évaluations du risque cumulé à des mélanges de pesticides (Kennedy *et al.*, 2019 ; Vanacker *et al.* 2020). Kennedy *et al.* 2019 observent que l'intégration des sources d'exposition non alimentaires modifie la composition des mélanges prioritaires. Ces outils sont intégrés dans une nouvelle version du logiciel Monte Carlo Risk Assessment (MCRA) (Van der Voet *et al.*, 2020).

Plus récemment, un réseau d'experts a soutenu l'opportunité d'utiliser des biomarqueurs d'effets comme outil de biosurveillance de l'exposition humaine à des mélanges de substances de différentes familles chimiques ayant le même effet, en y intégrant les connaissances sur les AOP et les modélisations PBPK (Zare Jeddi *et al.*, 2021). La Figure 4 illustre le cadre conceptuel intégratif proposé par ces experts. Ce dernier décrit les principales étapes du continuum allant de l'exposition aux substances chimiques à une perturbation progressive des fonctions biologiques jusqu'à l'apparition clinique des maladies. Les données toxicologiques et les données sur les AOP déterminent la validité physiologique de l'utilisation d'un ensemble de biomarqueurs d'effets pour des substances chimiques partageant le même mode d'action.

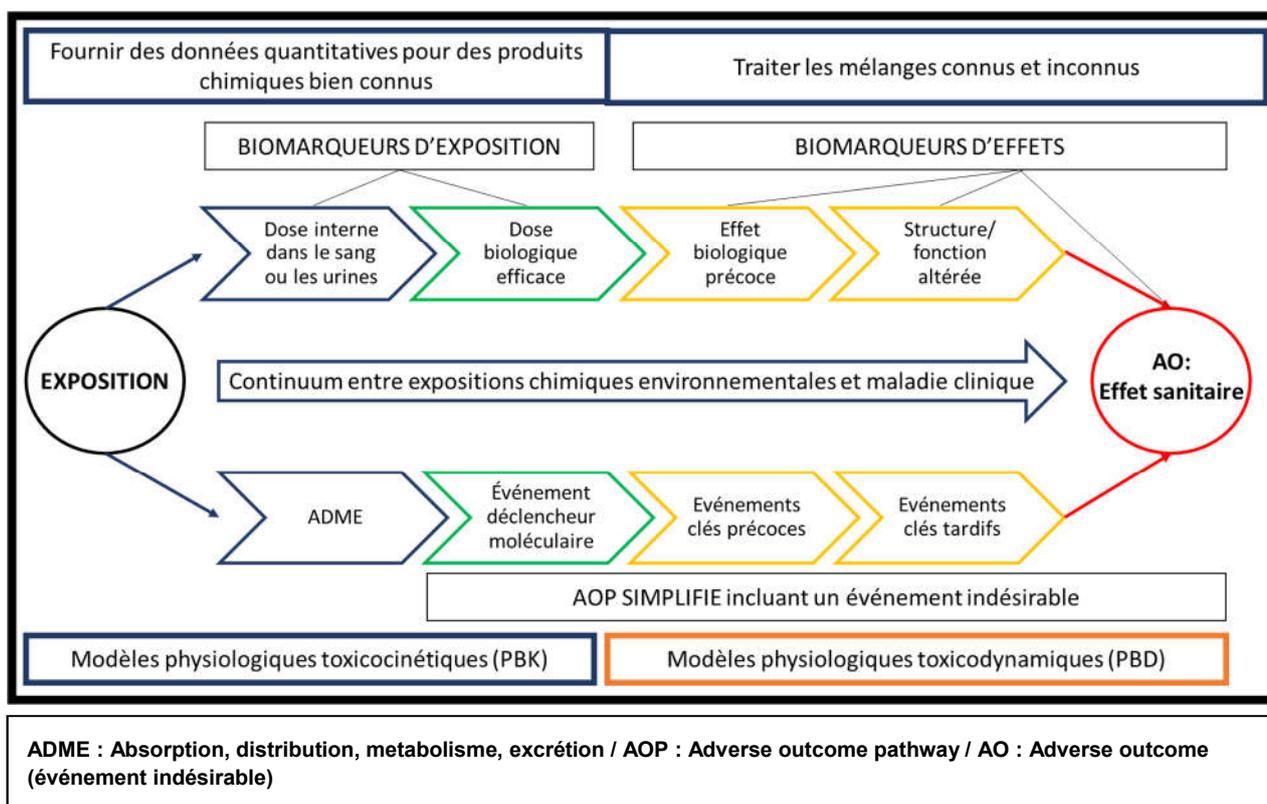


Figure 4 : Cadre conceptuel intégratif représentant le continuum entre les expositions chimiques environnementales et les maladies cliniques (extrait et traduit de Zare Jeddi *et al.* (2021))

Dans le cadre de la réalisation d'une revue des méthodes d'évaluations réglementaires des mélanges, Jonker *et al.* (2004) ont mis à jour un arbre décisionnel qui permet de retenir les contaminants les plus pertinents en fonction des situations (Figure 5). L'idée est de restreindre la problématique aux substances ou contaminants les plus pertinents par une technique de regroupement basée sur les effets ou les mécanismes d'action documentés.

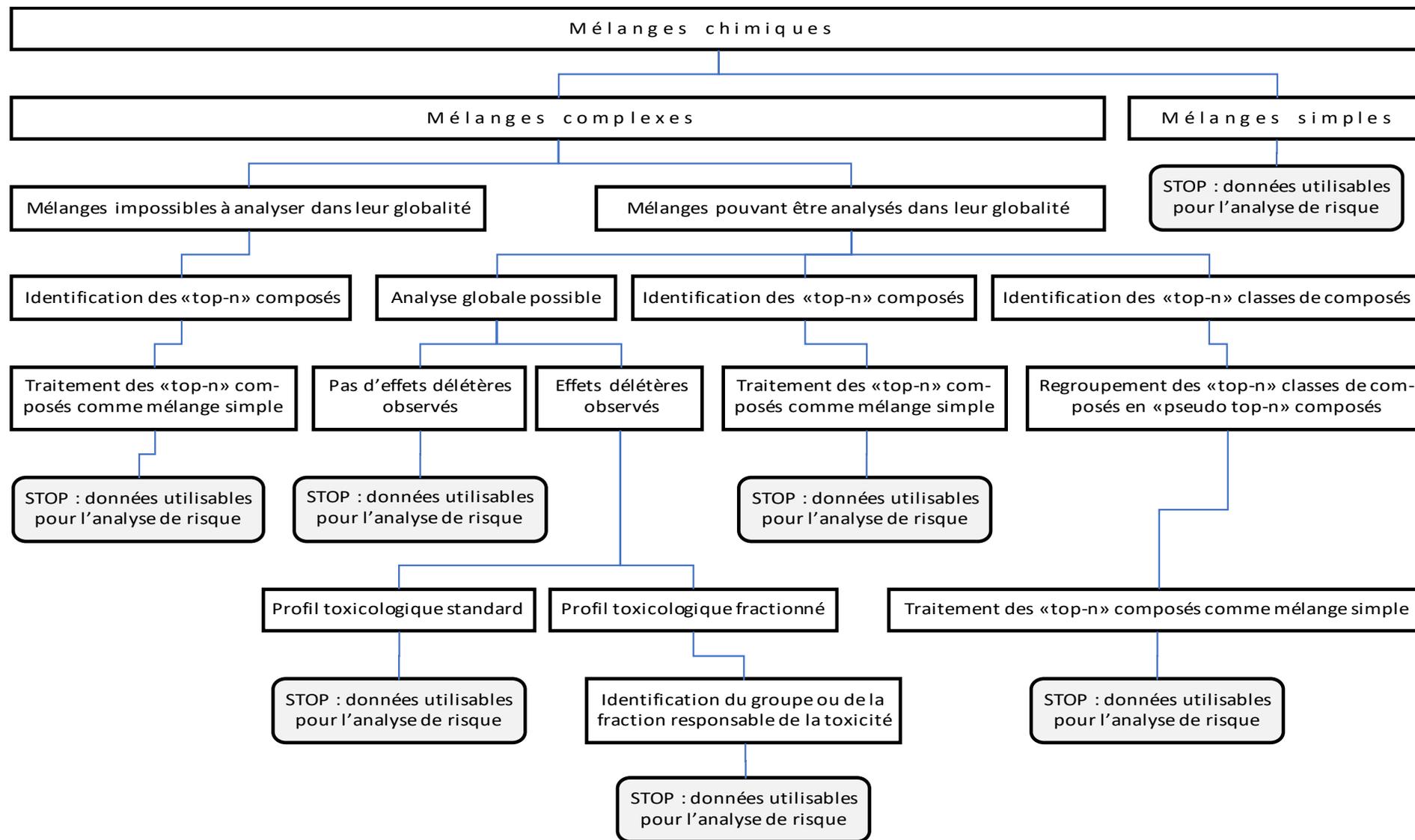


Figure 5 : Arbre décisionnel pour l'évaluation de risque cumulé (Jonker *et al.*, 2004). «top-n» contaminants ou classes de contaminants : identification des n contaminants ou classes de contaminants les plus pertinents pour l'évaluation du risque (pas nécessairement les plus toxiques individuellement)

3.2.5 Perspectives

Le regroupement des substances basé sur l'analyse des effets peut se heurter à la faible disponibilité de données mécanistiques pour l'ensemble des mélanges auxquels l'Homme peut être exposé. La généralisation de l'utilisation d'approches haut-débit en toxicogénomique permet néanmoins aujourd'hui de générer des données quantitatives massives à faible coût et comparables. Cela peut se révéler utile pour améliorer cette étape de l'évaluation du risque cumulé. Martin *et al.* (2007) ont démontré l'intérêt de l'utilisation de la transcriptomique pour catégoriser des fongicides et des perfluorés selon leur profils d'induction de gènes connus pour réguler des récepteurs nucléaires (tels que *PPAR* ou *CAR/PXR*). Une approche similaire a également été développée pour classer les substances génotoxiques à partir d'essais *in vitro* sur des lignées lymphoblastoïdes humaines (Williams *et al.*, 2015). De la même manière, Kongsbak *et al.* (2014) ont utilisé une approche de protéomique pour classer des pesticides en fonction de leurs modes d'action. Les travaux récents de Darde *et al.* (2015, 2018) sont basés sur une approche de bioinformatique permettant d'intégrer un ensemble de données de toxicogénomique pour la classification de substances reprotoxiques en fonction de leurs signatures transcriptionnelles et l'association de ces signatures avec des effets sanitaires. Ces éléments ont de plus l'intérêt d'être mis à disposition par une interface web.

3.3 Méthodes de cumul pour l'évaluation des risques

Aujourd'hui, la notion d'évaluation du risque cumulé est principalement fondée sur l'hypothèse d'additivité des doses ou des réponses (chapitre 3.3.1). Encore peu de méthodes ont été développées pour intégrer la notion de synergie ou d'antagonisme (chapitre 3.3.2).

3.3.1 Méthodes reposant sur l'additivité

Ce chapitre présente une description succincte des méthodes développées et utilisées sur la base de l'hypothèse d'additivité, et qui ont déjà été largement décrites dans plusieurs revues de la littérature (Pelletier *et al.*, 2017 ; Fournier *et al.*, 2014b ; Sarigiannis & Hansen, 2012 ; Refstrup *et al.*, 2010 ; Wilkinson *et al.*, 2000 ; Kortenkamp *et al.*, 2009, Lipscomb *et al.*, 2010, SCHER, 2011, De Zwart & Posthuma, 2013, Pose-Juan *et al.*, 2016 ; Fox *et al.*, 2017 ; Hass *et al.*, 2017). Certaines d'entre elles sont d'ailleurs également employées à des fins réglementaires (cf. Annexe 1).

3.3.1.1 Toxic Unit Summation (TUS)

La méthode de la « somme des unités toxiques » est l'application directe du concept d'additivité des doses. Elle a été proposée dès les années 1970 en écotoxicologie et est représentée par l'équation (E) où les unités toxiques sont le rapport entre l'exposition et la concentration efficace (telle que l' EC_{50}) d'une substance pour un effet donné (Sprague, 1970).

$$TUS = \sum_{i=1}^n TU_i = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{CE_{50i}} \quad (E)$$

où TUS : *toxic unit summation* ; TU : *toxic units* ; DJE_i : dose journalière d'exposition au contaminant i ; CE_{50i} : concentration efficace (par exemple 50 % de mortalité chez le poisson) pour la substance i sur une journée.

Assez peu appliquée aujourd'hui, cette méthode est à la base de toutes les approches fondées sur l'additivité des doses développées à ce jour et qui sont décrites par la suite.

La somme des unités toxiques a néanmoins récemment été proposée pour étendre l'application à la santé humaine du modèle d'additivité des doses au-delà de l'effet maximal identifié pour une substance, ce qui est le cas pour les agonistes partiels (récepteur AhR ou aux œstrogènes par exemple). L'approche a été testée sur 21 contaminants œstrogéniques (test de prolifération des cellules épithéliales du cancer du sein) et la réponse du mélange a été correctement prédite à partir des données individuelles de chaque contaminant (Scholze *et al.*, 2014).

3.3.1.2 Hazard Index (HI)

La méthode du HI (indice de danger) a été développée par l'US EPA sur les mêmes bases que le *Toxic Unit Summation* (TUS).

L'approche la plus simpliste consiste à sommer les quotients de dangers de chaque constituant du mélange de telle sorte à obtenir un « *hazard index* » selon l'équation ci-dessous :

$$HI = \sum_{i=1}^n QD_i = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{VTR_i} \quad (F)$$

où QD_i est le quotient de danger du constituant i , DJE_i la dose journalière d'exposition au contaminant i et VTR_i , la valeur toxicologique de référence (VTR) du contaminant i .

L'intérêt de cette approche repose sur sa simplicité et sa capacité à être utilisable dans toutes les situations, dès lors qu'on dispose de VTR, ce qui est apprécié pour la gestion des risques dans le cadre de l'aide à la décision. Cette approche peut intégrer différentes voies et sources d'exposition pour un mélange de polluants, par exemple l'inhalation d'air en zone urbaine, l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés (Ogbeide *et al.*, 2016 ; Li *et al.*, 2016). MacDonell *et al.* (2018) définissent les équations pour le calcul du « *multipathway hazard index* » (MHI) et mettent en avant son intérêt pour discuter des options de gestion.

L'inconvénient principal de cette approche est que la VTR de chaque constituant est fondée sur l'effet critique, c'est-à-dire l'effet qui apparaît aux plus faibles doses pour la substance d'intérêt. Cet effet peut ainsi être différent de celui qui serait pris en compte dans le cadre d'une étape de regroupement décrite dans la partie 3.2, et ainsi conduire à une sur-estimation du risque cumulé. C'est pourquoi ce type d'approche est généralement réservé aux étapes de *screening* (1^{ère} étape dans les approches par paliers suggérées dans le cadre réglementaire ou d'expertise scientifique (Gallagher *et al.*, 2015).

Cette approche peut être également améliorée en construisant des VTR *ad hoc* pour un organe cible ou effet spécifique commun ; dans cette situation un « *ajusted hazard index* » (aHI) est calculé (Pose-Juan *et al.*, 2016). L'approche « *modified Reference Point Index* » (mRPI) proposée par Vejdowszky *et al.* (2019) est similaire et prend en compte les avantages des 2 approches HI et PoDI, développé dans la partie 3.3.1.3.

Kortenkamp & Koch (2020), en conclusion d'une évaluation des risques liés aux mélanges de phtalates du fait de leurs effets anti-androgéniques, ont recommandé de considérer 10 à 20% du HI au lieu de 100% du HI (correspondant à la valeur de 1) pour prendre en compte le manque de connaissances sur les effets des substances en mélange.

L'approche du HI est celle recommandée dans les guides méthodologiques pour la gestion en France des installations classées pour l'environnement (ICPE), des sites et sols pollués et dans le cadre des réglementations sur les produits phytopharmaceutiques et biocides.

Les exemples présentés dans l'Annexe 2 mettent en évidence que l'utilisation de cette approche considère souvent les substances ayant un effet commun. Sur 34 ERC identifiées dans la littérature scientifique et ayant utilisé l'approche « HI », les polluants les plus étudiés sont les phtalates pour leurs propriétés anti-androgéniques (12 sur 34) et les pesticides (6 sur 34 pour différents effets avec des approches de regroupement dans certains cas). Les COV parfois étendus aux composés organiques semi-volatils (COSV) concernent en tout 6 études. Les contaminants perfluorés, les PBDE ainsi que les résidus de médicaments et les THM dans l'eau ont également été étudiés une fois. On remarque que dans la moitié des études, i.e. dans 18 études sur 34, soit des regroupements ont été réalisés par organes cibles et disponibilités de VTR, soit les VTR utilisées sont construites spécifiquement ou proviennent de la littérature afin de considérer un effet critique commun et ainsi rendre l'approche plus satisfaisante. Dans 5 cas cependant, les HI ont été estimés à partir de données plus disparates :

- c'est le cas pour les pesticides : il n'existe pas de VTR par groupes d'effets, toutes les VTR de la Commission européenne ou du *Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues* (JMPR) sont basées sur l'effet le plus sensible, variable d'une substance à l'autre pour les médicaments : utilisation des POD les plus faibles dans la littérature, chez l'Homme ou l'animal (Roden *et al.*, 2014)
- pour les COV : utilisation de CLI à la place de VTR (Mishra *et al.*, 2015),
- pour les métaux : utilisation de VLEP à la place de VTR (Minigalieva *et al.*, 2017 ; Omrane *et al.*, 2018)
- et enfin pour les PCB, HAP, PBDE : utilisation des seuils réglementaires pour les quantités de contaminants présents dans les poissons (Syberg *et al.*, 2017).

Une étude s'est intéressée à un mélange comprenant à la fois des contaminants chimiques et physiques (COV et bruit), ce qui indique que le HI peut aussi être utilisé pour évaluer le risque lié à un cumul de nuisances qui peuvent être de natures différentes. Pour le bruit, le QD a été estimé en comparant l'exposition représentée par l'intensité sonore ambiante à la valeur de référence de l'OMS (70 dB). Une étude évaluant l'impact sur l'audition du bruit et de la pollution à San Francisco (USA) a déterminé le *HI* global par la somme des QD des COV et du bruit :

$$HI_{\text{Global}} = HI_{\text{COV}} + QD_{\text{Bruit}} = \sum_{i=1}^n QD_{\text{COV}_i} + \frac{\mu \text{ [dB]}}{70 \text{ dB}} \quad (\text{G})$$

où μ représente l'intensité sonore ambiante (en dB) et [70 dB] représente la VTR de l'OMS pour le bruit.

L'étude conclut que le bruit est le contaminant principal dans la combinaison (bruit + pollution) à San Francisco pour la presbyacousie (Evans *et al.*, 2014).

Parfois, l'approche *HI* est complétée par la présentation des plus gros contributeurs au risque en utilisant un indicateur nommé *maximum cumulative ratio* (MCR), défini comme le rapport HI sur le quotient de danger maximal (maxQD) de chacun des composants (Price & Han, 2011; Han & Price, 2011; De Brouwere *et al.*, 2014, Pose-Juan *et al.*, 2016 ; Gustavsson *et al.*, 2017 ; Reyes & Price, 2018 ; Esposito *et al.* 2018). Son calcul repose sur l'équation suivante :

$$MCR = \frac{HI}{\max[QD_i]} = \frac{HI}{\max\left[\frac{C_i}{VTR_i}\right]} \quad (H)$$

Cet indicateur permet de décrire si le risque cumulé est dû à l'exposition au mélange dans son ensemble ou si la contribution de l'un des constituants domine.

Dans le cas d'un contaminant dominant, le *MCR* est proche de 1 et l'évaluation du risque par substance donnerait la même évaluation du risque que l'approche cumulée. Un *MCR* supérieur à 2 indique qu'aucun composant ne domine et que 50 % de l'évaluation du risque cumulé ne serait pas couverte par l'évaluation du risque par substance.

Cette « toxicité sous-évaluée » dans une approche individuelle peut être aussi appréhendée par le calcul suivant :

$$Missed\ toxicity = 1 - \frac{1}{MCR} \quad (I)$$

Une classification des mélanges en quatre groupes considérant les valeurs du *MCR* et des *HI* est proposée à partir d'un arbre décisionnel du CEFIC Mixtures Industry Ad hoc Team (MIAT) (Price & Han, 2011 ; Han & Price, 2011; De Brouwere *et al.*, 2014) (Tableau 3).

Tableau 3: Classification des mélanges en fonction des valeurs de *HI/MCR*

| Groupe | MRC et HI | Description |
|--------|---|---|
| I | $\max[HI] > 1$ ($HI > MCR$) | Risque identifié pour au moins une substance du mélange qui aurait été identifié par l'évaluation des risques par substance |
| II | $HI < 1$ | Faible intérêt du risque cumulé des substances |
| IIIA | $HI > 1$; $HI < MCR$; $MCR < 2$ (MCR compris entre 1 et 2 ; $\max[QD_i] < 1$) | Risque cumulé porté par une substance du mélange |
| IIIB | $HI > 1$, $HI < MCR$, $MCR > 2$; ($\max[QD_i] < 1$) | Risque cumulé porté par plusieurs substances du mélange |

Cette approche a été appliquée dans deux études (Mishra *et al.*, 2015 ; Diamond *et al.*, 2018).

Comme évoqué précédemment, Boberg *et al.*, (2021) ont développé une application sur internet appelée "Chemical Mixture Calculator"¹⁴ afin d'évaluer le risque des substances en mélange à partir de l'approche *HI*. Elle permet également d'identifier la substance la plus contributrice au risque d'effets liés à l'exposition aux substances chimiques en mélange. Cette application prend en compte une approche par palier selon les connaissances de l'effet commun pour le regroupement des substances du mélange (cf. 3.2.2).

¹⁴ www.chemicalmixturecalculator.dk

Enfin, l'approche de type *HI* a également été utilisée dans un cadre de gestion. Deux exemples peuvent être mentionnés :

- Santé Canada a utilisé cette démarche dans le cas où plus d'un aldéhyde est mesuré dans l'air intérieur sur un pas de temps de 5 minutes (équivalent donc à une courte durée) (Santé Canada, 1987). L'approche consiste à sommer le ratio des concentrations du formaldéhyde, de l'acroléine, et de l'acétaldéhyde par leurs valeurs guides respectives (à savoir respectivement 120 ; 50 et 9 000 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$). Cette somme doit être inférieure ou égale à 1 (même principe que le *HI*).
- La question des mélanges se pose en milieu professionnel depuis de nombreuses années. L'*American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) s'est emparée de cette problématique dès le début des années 1960. Les approches développées supposaient que les substances chimiques auxquelles les travailleurs étaient exposés pouvaient agir sur le même organe cible et en 1971, une équation spécifique de type *HI* pour les mélanges de contaminants aériens a été adoptée pour la proposition des valeurs limites de l'OSHA (1971). En 2014, un outil internet MIXIE, initialement développé au Québec (1^{ère} version en 2001 et actualisée en 2005) a été proposé en France grâce à une collaboration entre l'Université de Montréal, l'IRSST (Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et en Sécurité du Travail) et l'INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité) (<http://www.inrs-mixie.fr/>). Intervenu en 2005, la mise à jour de l'outil dans sa version initiale avait nécessité plusieurs phases d'analyse de données (IRSST, 2005). La première phase prenait en compte un grand nombre de substances (plus de 600 substances réglementées) et amenait à considérer tous les effets se trouvant dans les classes d'effets similaires comme additifs. La deuxième phase considérant plus de 200 couples de substances sélectionnés visait à préciser le type d'interaction pour les mélanges et a permis d'identifier des situations d'infra additivité et de supra additivité. Au final, il est recommandé de considérer un effet additif potentiel pour les situations d'infra additivité. Pour les situations de supra additivité, l'abaissement de l'exposition au niveau le plus bas possible et la mise en place d'un programme de prévention ont été recommandés. L'outil MIXIE permet d'identifier rapidement si les agents chimiques représentant les mélanges auxquels sont exposés les professionnels ont des effets communs (sur la base de l'organe cible) et calcule automatiquement un indice d'exposition qui correspond à un *HI* en utilisant la somme des ratios des concentrations sur les VLEP. En 2020, 12 nouvelles substances ont été intégrées et les classes d'effets mises à jour pour environ 70 substances prenant compte la classification européenne, CLP¹⁵ et internationale du CIRC.

3.3.1.3 Point Of Departure Index (PoDI)

Si le *HI* est une approche qui peut largement être utilisée dans les ERC dès lors qu'on dispose de VTR, le fait de comparer des indicateurs qui ne sont pas forcément construits sur les mêmes effets peut se révéler problématique, surtout dans le cas où le seuil de 1 est dépassé, ce qui est souvent le cas parmi les exemples présentés en Annexe 2 (78 % des cas). L'une des propositions pour éviter ces inconvénients consiste à comparer l'exposition des substances directement aux indicateurs de toxicité animale recueillis dans la littérature pour l'effet considéré et nommé « *point of departure* » ou PoD (*No observed adverse effect level* - NOAEL ou *Lowest observed adverse effect level* LOAEL ou Limite inférieure de l'intervalle de confiance de la *Benchmark dose* - BMDL). C'est l'approche

¹⁵ Règlement (CE) 1272/2008

« PoDI » pour « *point of departure index* ». (équation (J), également appelée « *Reference point index* » (RPI) (Pose-Juan *et al.*, 2016).

$$PoDI = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{PoD_i} \quad (J)$$

avec $PoDI$ = *Point Of Departure Index* (indice de point de départ), DJE_i = exposition, PoD = Point départ (dose critique)

D'après Wilkinson *et al.* (2000), les données toxicologiques et le PoD retenu doivent représenter la toxicité des différents contaminants dans le mélange par rapport à un effet commun dans l'idéal. *A priori*, le même type de dose critique doit être utilisé.

Cette approche repose également sur l'application d'un facteur de sécurité global pour le mélange avec le PoDI résultant devant être inférieur à 1.

Comme indiqué dans la partie 3.3.1.2, l'approche « *modified Reference Point Index* » (mRPI) proposée par Vejdovsky *et al.*, (2019), reposant sur l'équation (K), combine les avantages des approches HI et PoDI en identifiant les PoD des différents contaminants du mélange par rapport à un effet commun et l'application de facteurs d'incertitudes pour chaque contaminant en fonction des connaissances spécifiques, revenant à élaborer des VTR pour l'effet commun. Cette approche a été appliquée aux données de contamination du lait maternel (Crépet *et al.*, 2022)

$$mRPI = \sum_{i=1}^n \frac{DJE_i \times UF_i}{PoD_i} \quad (K)$$

Une autre démarche très similaire est la MOE_{mix} (*margin of exposure for the mixture*) telle que présentée dans l'équation (L). Celle-ci revient à retenir des facteurs de sécurité spécifiques en fonction des connaissances sur les différents effets d'une substance pertinents pour évaluer la toxicité du mélange. Il permet de comparer la dose d'exposition à la dose minimale entraînant des effets indésirables. Cette approche relève du gestionnaire de risque et peut s'avérer différente selon la(les) réglementation(s) dont relèvent les substances du mélange et l'effet considéré.

$$MOE_{mix} = \frac{1}{PoDI} = \frac{1}{\sum_{i=1}^n \frac{DJE_i}{PoD_i}} \quad (L)$$

avec MOE_{mix} = marge d'exposition calculée pour le mélange, MOE_i = marge d'exposition du contaminant i , PoD = dose critique

L'interprétation de ce calcul de MOE pour un mélange nécessite comme pour le PoDI d'appliquer un facteur d'incertitude global avec une MOE_{mix} devant être, cette fois, supérieure à 1.

Cette approche a eu peu d'applications (Annexe 3). Cinq études ont été identifiées dans le cadre de la revue de la littérature réalisée pour cette expertise.

Ces études ont évalué les risques liés à l'exposition à différentes substances chimiques qui n'appartiennent pas à la même famille en recherchant des doses critiques (NOAEC, BMCL ou LOAEC). La première étude prend en compte différentes sources de données (ATSDR Toxicological profiles, US EPA HAP Profiles, ITER, HSDB) et met en évidence un risque en lien avec l'exposition à plus de quarante polluants de l'air ambiant pour les effets respiratoires, neurologiques ainsi que hépatiques, rénaux et immunologiques, ce qui n'était pas le cas avec l'approche HI basée sur les

RfC qui ne documentent pas ces trois dernières catégories d'effets (Fox *et al.* 2004). La deuxième étude considère une dizaine de substances chimiques de familles différentes dont l'effet perturbateur endocrinien avec action œstrogénique et anti-androgénique est connu pour lequel une étude chez l'animal a été réalisée spécifiquement en vue d'établir les doses critiques pour la différenciation sexuelle chez le rat (NOAEL/LOAEL – distance anogénitale ou rétention du mamelon). Même en considérant des doses élevées, le mélange considéré ne devrait pas induire d'effet anti-androgénique chez le rat (Christiansen *et al.* 2012). La troisième étude montre des risques de toxicité rénale chez les adultes et les enfants exposés à des métaux, mycotoxines; composés organiques et inorganiques via l'alimentation quel que soit le scénario d'exposition en se basant sur l'approche mRPI (Vejdowszky *et al.* 2019).

La quatrième étude utilise l'approche MOE pour évaluer les risques liés à l'exposition alimentaire à différentes substances chimiques regroupées selon leur toxicité d'après le CAG de l'EFSA pour la stéatose hépatique : pesticides, polluants organiques persistants et les additifs alimentaires. Cette étude met en évidence l'existence du risque cumulé en fonction des différents scénarios d'exposition retenus et des substances considérées (Sprong *et al.*, 2020).

La cinquième étude a utilisé l'approche mRPI pour évaluer les risques d'effets neurologiques et sur la thyroïde d'un mélange de contaminants présents dans le lait maternel afin d'utiliser des facteurs d'incertitudes spécifiques à chaque substance du mélange en fonction des données disponibles (Crépet *et al.* 2022).

3.3.1.4 Toxic equivalent factors (TEF) / relative potency factor (RPF)

La troisième approche classique est celle des facteurs d'équivalence toxique (TEF), qui s'est généralisée sous l'appellation « *relative potency factor* » (RPF) ces dernières années. Elle correspond à l'application même du modèle d'additivité des doses où chaque constituant peut être considéré comme une dilution du constituant le plus toxique du mélange ou celui pour lequel les données toxicologiques comportent le moins d'incertitudes. Dans ce cadre, on exprime la dose du mélange (D_{mix}) comme la somme des doses de chaque constituant (D_i) pondérée par son facteur de toxicité relative (RPF_i) ou son facteur d'équivalence toxique (TEF_i) :

$$D_{mix} = \sum_{i=1}^n DJE_i \cdot RPF_i \quad (M)$$

Ou

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

Le TEF est une évaluation de la toxicité d'un contaminant particulier qui a été développée à partir de 1977. Il est défini pour des contaminants chimiquement proches et ayant le même mécanisme d'action à partir des résultats d'études *in vitro* et *in vivo*. La première étape consiste à estimer le potentiel toxique d'un contaminant qui servira de référence à partir de laquelle le potentiel toxique des autres contaminants sera établi. La quantité, la pertinence et la robustesse des données expérimentales ou humaines disponibles pour chaque contaminant sont prises en compte pour sélectionner le composé de référence. Un facteur d'équivalence toxique de 1 est arbitrairement donné à la substance de référence.

L'évaluation des risques (QD_{mix}) est ensuite conduite sur la base de cette équivalence selon l'équation suivante :

$$HQ_{mix} = \frac{D_{mix} \text{ ou } TEQ}{VTR_{CI}} (0)$$

où ici, VTR_{CI} est la VTR du contaminant index retenu comme la référence (la toxicité de chaque autre constituant est pondérée par rapport à sa toxicité). Par définition, la substance de référence a un facteur de toxicité de 1 et les autres congénères, des facteurs déterminés expérimentalement ou par analogie de structure chimique.

Les articles proposant des TEF portent principalement sur les familles des dioxines polychlorées, dibenzofuranes polychlorés et polychlorobiphényles (respectivement PCDD, PCDF et PCB) pour lesquelles la définition de TEF/RPF a été régulièrement mise à jour au regard des nouvelles données expérimentales. Ils sont détaillés dans la 1^{ère} partie du tableau en Annexe 4.

Le programme international sur la sécurité chimique (IPCS) de l'OMS attribue des TEF aux différents contaminants en fonction de l'évolution des connaissances (van den Berg *et al.*, 1998 ; 2006). En effet, ces familles représentent une situation particulière : une multitude de substances structurellement apparentées activent une même voie de signalisation intracellulaire suite à la liaison au récepteur AhR avec des puissances différentes. C'est d'ailleurs cette situation qui a conduit au développement du concept de TEF. On exprime ainsi l'exposition au mélange en équivalent toxique (TEQ) du plus toxique (la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine (TCDD) dans ce cas). Ce concept a été étendu à d'autres familles de contaminants de structure semblable activant une même voie biochimique. C'est le cas entre autres de certains pesticides organophosphorés ou carbamates qui inhibent l'acétylcholine estérase, ou des perturbateurs endocriniens qui se lient à des récepteurs aux œstrogènes, androgènes ou qui inhibent les voies de la stéroïdogénèse, ou encore les HAP en rapport avec leur génotoxicité.

Cette approche est intéressante dès lors qu'on peut identifier des effets communs qui seraient la conséquence d'un ou de plusieurs événements biologiques clés suffisamment connus. C'est ainsi qu'à ce jour, seuls ont été développés des RPF ou TEF sur la base de quelques mécanismes : la liaison au récepteur arylhydrocarbène AhR (dioxines ou HAP) ; l'inhibition de l'acétylcholine estérase (organophosphorés ou carbamates) ; l'inhibition des canaux sodiques voltage dépendants (pyréthrinoides) ; l'activité PE (inhibition de la stéroïdogénèse, liaison aux ER, liaison aux AR) ; la génotoxicité, et même plus précisément la phosphorylation des histones (HAP). Bien que théoriquement basés sur un mécanisme spécifique, la plupart des TEF/RPF qui découlent de ces travaux ont été construits à partir de la comparaison de données toxicologiques variées dès lors qu'une relation dose-réponse était disponible (excepté pour les « *genotoxic equivalency factor* » proposés par Audebert *et al.*, 2012) : différentes approches expérimentales (*in vivo* / *in vitro*), différentes durées ou voies d'exposition, ou encore différents indicateurs toxicologiques (LOAEL, NOAEL, BMD), ce qui constitue un inconvénient majeur dès lors qu'on s'intéresse à la notion de toxicité relative.

Les exemples d'utilisation de cette approche sont détaillés dans la 2^{ème} partie du tableau proposé en Annexe 4. Les 12 articles décrits portent sur des familles chimiques identiques, notamment des pesticides (contaminants organophosphorés et azolés), des HAP et des PCB (Boon *et al.*, 2008 ; Jensen *et al.*, 2013 ; Payne Sturges *et al.*, 2009 ; Bil *et al.*, 2021).

Les articles de Fournier *et al.* (2016) et Pelletier *et al.* (2018) se sont intéressés à des mélanges incluant différents types de contaminants dans le contexte d'expositions dans des environnements intérieurs, Chou *et al.* (2017) aux polluants particuliers de l'air ambiant. Dans l'étude de Suomi *et*

al., (2017), une évaluation des effets liés à une exposition cumulée à des métaux lourds (cadmium, plomb, arsenic inorganique, méthylmercure, mercure inorganique) est réalisée avec le calcul de RPF pour chaque substance du mélange pour les effets communs de néphrotoxicité et neurotoxicité.

Dans l'étude de Teuschler *et al.* (2004), les auteurs utilisent l'approche CRPF (*cumulative relative potency factors*) de l'US EPA qui combine les principes d'additivité des doses et des réponses en une seule méthode pour l'évaluation des risques des mélanges liés à plusieurs voies d'exposition. Cette méthode repose sur l'utilisation d'informations sur le mode d'action propre à chaque substance pour distribuer chaque substance dans une sous-classe ayant un mode d'action commun. Ces sous-classes diffèrent ainsi par leur mode d'action, mais l'effet néfaste considéré est le même pour l'ensemble des sous-classes.

Pour chacune des sous-classes, un ICED (*index chemical equivalent dose*) est calculé en utilisant l'approche RPF. Le concept d'ICED est utilisé dans le CRPF à deux niveaux :

- ICED de la substance : se réfère à l'ICED de la substance prise individuellement dans la sous-classe.
- ICED de la sous-classe : se réfère à l'ICED pour l'ensemble des substances d'une sous-classe.

L'approche RPF a été proposée pour caractériser les risques associés à un mélange de substances toxicologiquement similaires. L'ICED a la même interprétation mathématique que le TEQ pour les dioxines.

3.3.2 Méthodes reposant sur l'antagonisme ou la synergie

Une exposition simultanée ou séquentielle à de multiples substances peut causer des interactions pharmacocinétiques et/ou pharmacodynamiques. De telles interactions peuvent modifier la relation dose-réponse d'une substance et par voie de conséquence sa toxicité. Il peut s'agir d'effets antagonistes ou synergiques.

Plusieurs approches ont complété certaines des méthodes reposant sur l'additivité afin d'intégrer ces notions d'interaction.

3.3.2.1 Approche du poids de la preuve

La méthode WoE (weight of evidence) est basée sur le HI (Mumtaz & Durkin, 1992 ; Mumtaz *et al.*, 1998 ; INERIS, 2006). Cette méthode proposée par Mumtaz propose une pondération du HI à partir de l'étude des interactions par couple de substances au sein du mélange. Elle est basée sur l'expression de la relation entre l'indice de danger estimé des substances au sein du mélange et l'évaluation du poids de la preuve de l'interaction binaire des substances dans le mélange. On obtient la relation suivante :

$$IF_{i,j} + IF_{j,i} = D \cdot W \cdot (HI_i \cdot HI_j)^{0.5} \quad (P)$$

Où

$IF_{i,j}$ est l'effet du constituant j sur la toxicité du constituant i, et $IF_{j,i}$ étant défini comme l'effet de i sur la toxicité de j ;

D est le facteur de direction de l'interaction (avec D=0 dans le cas de l'additivité ou d'absence d'interaction ; D=1 dans le cas de la synergie ou ; et D=-1 dans le cas d'antagonisme).

W est défini comme exprimant le niveau de confiance global attribué à l'évaluation qualitative des interactions.

HI_i et HI_j sont les valeurs de l'indice de danger (Hazard Index) de la substance i et de la substance j , respectivement.

On définit un facteur de pondération WoE_M qui s'exprime à partir de la somme des facteurs d'interactions des substances dans le mélange ($IF_{i,j}$) qui prennent en compte la direction de l'interaction et le poids de la preuve de cette interaction :

$$WoE_M = \sum (IF_{i,j} + IF_{j,i}) \quad (Q)$$

Ce score WoE_M est ensuite normalisé (WoE_N) en le divisant par le WoE_{MAX} qui correspond à la somme des moyennes géométriques des HI du mélange :

$$WoE_{MAX} = \sum (HI_i \cdot HI_j)^{0.5} \quad (R)$$

Ainsi,

$$WoE_N = WoE_M / WoE_{MAX} \quad (S)$$

Le WoE_N peut prendre une valeur dans l'intervalle entre -1 et 1 :

- -1 correspondant à la plus haute valeur de niveau de confiance possible pour une interaction significative antagoniste
- +1 correspondant à la plus haute valeur de niveau de confiance possible pour une interaction significative de synergie.

Pour prendre en compte le niveau d'incertitude sur la nature des interactions des substances dans le mélange, l'expression du HI est alors basée sur la méthode WOE_N :

$$HI_i = HI \cdot UF^{WOE_N} \quad (T)$$

Avec :

HI_i : Hazard index ajusté

HI : Hazard index non ajusté, basé sur l'hypothèse de l'additivité simple

UF : facteur d'incertitude, pris par défaut égal à 10 (Mumtaz *et al.*, 1994).

WoE_N : poids de la preuve normalisé calculé selon l'équation (R)

Cette méthode a été testée en calculant le score prédictif des interactions et en le comparant avec des résultats expérimentaux (étude sur 4 néphrotoxiques au mode d'action similaire (trichloroéthylène, tétrachloroéthylène, hexachloro-1,3-butadiène (HCBD), 1,1,2-trichloro-3,3,3-trifluoroproène (TCTFP)) et 4 autres néphrotoxiques avec des modes d'action différents (chlorure de mercure, lysinolalanine, D-limonène et HCBD). La prédiction des interactions sur l'organe cible

(le rein) s'est avérée relativement satisfaisante. En revanche, cette méthode ne permet pas de prédire la nature des interactions sur un autre organe que l'organe cible commun.

Dans certains cas, en particulier pour des médicaments, l'US EPA définit des facteurs d'interaction entre des constituants d'un mélange, pris 2 à 2, en comparant des DL₅₀ expérimentales et théoriques (US EPA, 2003). L'agence américaine de sécurité des aliments et des médicaments (US FDA) a établi des directives pour évaluer des interactions entre des médicaments à partir de potentiels d'induction enzymatique et des données de pharmacocinétique clinique (US FDA, 2012). Ceci conduit au calcul de l'indice de danger cumulé tenant compte des interactions entre constituants (HI_{Int}) d'après la formule suivante (U):

$$HI_{Int} = \sum_{i=1}^n \left(HQ_i \cdot \sum_{j \neq i}^n f_{ij} M_{ij}^{B_{ij} \theta_{ij}} \right) \quad (U)$$

où f est un facteur d'interaction entre les constituants i et j, M un facteur de magnitude d'interaction toxique, B un facteur de pondération de la preuve (*weight of evidence*) dépendant de la qualité des données toxicologiques, et θ dépend du rapport de concentration des constituants i et j dans le mélange.

Cette approche a été appliquée par Roden *et al.* dans le cadre de leur ERC liée aux résidus de médicaments dans les eaux de surface (Roden *et al.*, 2014).

Ces facteurs d'interaction sont basés sur des indicateurs de dose très élevés où des interactions sont d'autant plus probables. Les données de type DL₅₀ utilisées par Roden *et al.* (2014) ne sont que peu disponibles ou presque jamais pour les contaminants de l'environnement. De plus, les interactions à la DL₅₀ sont loin d'être de même nature que celles pouvant être observées aux faibles doses. Roden a donc utilisé des facteurs d'interaction qui semblent peu robustes.

3.3.2.2 Approche "Overall risk probability (ORP)"

Yu *et al.* (2011) ont proposé d'étendre l'additivité des réponses pour la prise en compte du risque cumulé en quantifiant les effets de synergie et d'antagonisme pour les mélanges de substances. Cette méthode de quantification des effets des mélanges est dérivée pour le cas d'un effet indépendant, d'un effet antagoniste et d'un effet synergique du mélange : *overall risk probability* (ORP).

Lorsque les contaminants du mélange sont indépendants (pas d'interaction entre eux), il est fait l'hypothèse que l'ORP de chaque contaminant reste le même comme si les contaminants se trouvaient dans un système à un contaminant.

Dans ce cas, l'ORP du mélange est calculé comme suit :

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

Où, P_m est l'ORP du mélange, P_i l'ORP de la substance i et n le nombre de substance dans le mélange.

Dans le cas où les contaminants du mélange interagissent de manière antagoniste et réduisent donc le risque d'apparition d'un effet des autres contaminants, un coefficient antagoniste (a_{ij}) est ajouté

pour représenter la probabilité du contaminant i de réduire l'effet néfaste du contaminant j du mélange.

Le calcul de l'ORP s'exprime comme suit (W):

$$P_i = P_i^0 \prod_{j=1}^n (1 + a_{ij} P_j^0) \quad (W)$$

Où P_i^0 est l'ORP du contaminant i et P_j^0 l'ORP du contaminant j .

Ce coefficient antagoniste est calculé par régression multivariée des données expérimentales.

Dans le cas où les contaminants du mélange interagissent de manière synergique et augmentent le risque d'apparition d'un effet des autres contaminants et afin de prendre en compte cette interaction, un coefficient synergique (s_{ij}) est introduit dans le calcul, comme suit :

$$(1 - P_i) = (1 - P_i^0) \prod_{j=1}^n (1 - s_{ij} P_j^0) \quad (X)$$

Ce coefficient synergique est calculé par régression multivariée des données expérimentales. Cette approche est illustrée par des exemples numériques, aucune publication appliquant cette approche n'a été identifiée.

3.3.2.3 Approche par modélisation PBPK

La modélisation PBPK est utilisée dans le cadre de la toxicologie des mélanges principalement pour :

1. estimer une concentration interne ou systémique d'un contaminant individuel relative à une exposition externe à un mélange complexe (cette donnée est nécessaire au calcul du *biological hazard index* (BHI)).
2. investiguer les interactions possibles entre les contaminants du mélange au niveau toxicocinétique (e.g. les contaminants d'un mélange se comportent-ils de manière indépendante ou un contaminant individuel altère-t-il la concentration interne ou systémique des autres contaminants ?)
3. estimer une exposition interne par une voie à partir de données générées pour une autre voie d'exposition (transposition de voie).

Déjà en 2004, l'utilisation de la modélisation PBPK pour prédire quantitativement la conséquence des interactions des substances en mélange était recommandée (Jonker *et al.*, 2004).

Des études donnent d'ailleurs des exemples concrets de son utilisation. Dans celle d'Andersen *et al.* (2004), les auteurs décrivent des exemples connus d'interactions pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de mélanges de substances.

Ces exemples de mélanges peuvent être :

(i) soit des mélanges binaires comme le 1,1-dichloroéthylène (DCE) et le trichloroéthylène (TCE), sachant que le TCE diminue la toxicité du DCE par compétition pour se fixer sur le même site enzyme (interaction pharmacocinétique) ; le tétrachlorure de carbone (CCl_4) et la chlordécone,

sachant que chez l'animal, le prétraitement par la chlordécone potentialise la toxicité du CCl₄. Il s'agit dans ce cas d'une interaction de type pharmacodynamique probablement par blocage de la signalisation réparatrice des hépatocytes ;

(ii) soit d'autres mélanges tels que ceux liés à la métabolisation d'une substance en plusieurs métabolites (mélange de la substance parente et des métabolites). Chez le rat par exemple, le n-hexane entre en compétition avec ses propres métabolites par interaction pharmacocinétique avec son métabolite terminal la 2,5-hexanedione.

Dans la publication de Sasso *et al.* (2010), les auteurs décrivent un système global de modélisation basé sur l'utilisation de plusieurs modèles PBPK (rassemblés sous le terme de GTMM (*generalized physiologically-based toxicokinetic modeling system*)) incorporés sous une même interface. Ce système permet de prendre en compte et de simuler de nombreuses interactions entre des métaux lourds (cadmium, plomb, arsenic) et des substances non métalliques (médicaments ou pesticides) (Tableau 4). Les interactions décrites sont des phénomènes d'induction ou d'inhibition par les métaux lourds des CYP qui interviennent dans le métabolisme de substances telles que les médicaments, les pesticides ou autres polluants organiques.

Tableau 4 : Quelques interactions entre métaux et CYP chez l'Homme et l'animal

| Métaux | Effets sur des CYP | Substrats potentiels* |
|--------------------|--|---|
| Cadmium | Induit 2A6 | Carbamates, drogues |
| | Induit 2E1 | Aliphatiques halogénés, organophosphates, triazines, COV, drogues |
| | Induit 2C9 | Organophosphates, triazines, drogues |
| Plomb | Inhibe 2A6 | Drogues |
| | Inhibe 1A2 (rat) | Arylamines, organophosphates, triazines, COV, PCB, drogues |
| Arsenic | Induit 1A1 (rat) | Triazines, COV, HAP, PCB |
| Mélanges de métaux | Module 1A1/2, induction par HAP/TCDD (rat) | Organophosphates, triazines, COV, HAP, PCB, drogues |

* Relations métaux/CYPs issues de H-K.

Tan *et al.* (2011) décrivent l'utilisation de la modélisation PBPK pour investiguer les interactions PK/PD des substances en mélange. Les exemples décrits dans cet article appliquent la modélisation PBPK à des mélanges de substances dans le cadre d'une évaluation du risque cumulé afin de prédire les conditions dans lesquelles les interactions PK altèrent l'hypothèse d'additivité des doses. Ainsi, dans le cas de différents mélanges ternaires (trichloroéthylène/ perchloroéthylène/ méthylchloroforme; toluène/ xylène/ éthylbenzène), la modélisation PBPK permet de mettre en évidence que l'interaction pharmacocinétique est une inhibition métabolique de nature compétitive sur les CYP450. Dans le cas d'un mélange binaire de CCl₄ et de méthanol, la modélisation permet de faire l'hypothèse d'une interaction pharmacocinétique (par potentialisation des effets hépatotoxiques du CCl₄ par induction métabolique), et d'une interaction pharmacodynamique mise en évidence par les concentrations plasmatiques en alanine aminotransférase et sorbitol déshydrogénase.

Haddad *et al.* (1999) proposent d'utiliser la modélisation PBPK pour tenir compte des interactions et simuler les concentrations en biomarqueur relatives à une exposition à un mélange de solvants (toluène, éthylbenzène, xylène), ceci afin de l'appliquer au concept du BHI (*biological hazard index*).

L'approche par le BHI classique utilise les données de biosurveillance sans tenir compte des interactions toxicocinétiques des constituants du mélange, selon la formule ci-dessous :

$$\text{BHI} = \sum_{i=1}^n \frac{\text{MC}_i - \text{BC}_i}{\text{BEI}_i - \text{BC}_i} \quad (\text{Y})$$

avec MC_i = concentration simulée ou niveau d'excrétion du biomarqueur.

BC_i = concentration du bruit de fond ou niveau d'excrétion

BEI_i = concentration du biomarqueur chez un travailleur sain exposé à la valeur toxicologique de référence (TLV).

L'approche BHI classique sans interaction pose l'hypothèse que la toxicocinétique des constituants du mélange n'est pas affectée par la co-exposition et que les effets toxiques sont additifs.

L'utilisation de la modélisation PBPK permet de simuler les niveaux de concentration ou d'excrétion appliquée au calcul du BHI classique en tenant compte des interactions toxicocinétiques des constituants du mélange. Dans ce cas, l'équation du BHI avec interaction s'exprime comme suit :

$$\text{BHI} = \sum_{i=1}^n \frac{\text{SC}_i}{\text{BEI}_i} \quad (\text{Z})$$

avec SC_i = concentration simulée ou niveau d'excrétion du biomarqueur par la modélisation PBPK.

Cette méthodologie est appliquée à un mélange constitué de toluène, de xylène et d'éthylbenzène pour lesquels les interactions par inhibition compétitive du métabolisme hépatique sont connues et caractérisées. Grâce à la modélisation PBPK avec interaction, il est possible de prédire les valeurs numériques du BHI et des concentrations simulées pour calculer le BHI du mélange. L'exercice est réalisé sur plusieurs mélanges définis de trois solvants (toluène, xylène et éthylbenzène) pour lesquels le BHI est calculé, et ce résultat est comparé avec la méthode classique du Hazard index. Les résultats semblent démontrer qu'à faible concentration, les résultats du BHI obtenus par la méthode classique sont similaires à ceux obtenus par la méthode du BHI avec interaction, ce qui confirme selon les auteurs qu'à faible dose les conséquences d'une interaction par inhibition compétitive du métabolisme sont négligeables. En utilisant le programme MIXIE qui permet d'évaluer les interactions potentielles entre des substances chimiques sur une base de 600 substances, la conclusion reste similaire.

3.4 Approche globale prenant en compte le mélange en lui-même

3.4.1 Données épidémiologiques et toxicologiques

En toxicologie, il est complexe de conduire des études sur des mélanges représentatifs de toutes les situations réelles d'exposition tant les mélanges sont divers et les proportions des substances qui les composent variables.

L'épidémiologie permet d'étudier plusieurs facteurs de risque conditionnant l'apparition, la fréquence, le mode de diffusion et l'évolution des maladies affectant des groupes d'individus, ce qui nécessite de les intégrer dans la conception de l'étude épidémiologique et dans l'analyse des

données. Ces facteurs de risques ne se limitent pas aux facteurs chimiques et peuvent couvrir, par exemple, les facteurs physiques (radiation, bruit, etc.) et les caractéristiques socio-économiques.

Concernant l'évaluation des expositions, la prise en compte des différents contaminants individuels du mélange est souhaitable, ainsi que l'étude de la corrélation entre les polluants.

Levy (2008) et Braun *et al.* (2016) exposent l'apport possible des études épidémiologiques dans l'analyse des effets de mélanges.

Levy (2008) encourage l'utilisation des données épidémiologiques dans l'évaluation du risque cumulé en proposant un processus systématique à appliquer pour déterminer la pertinence des données épidémiologiques lorsqu'elles existent (Figure 6).

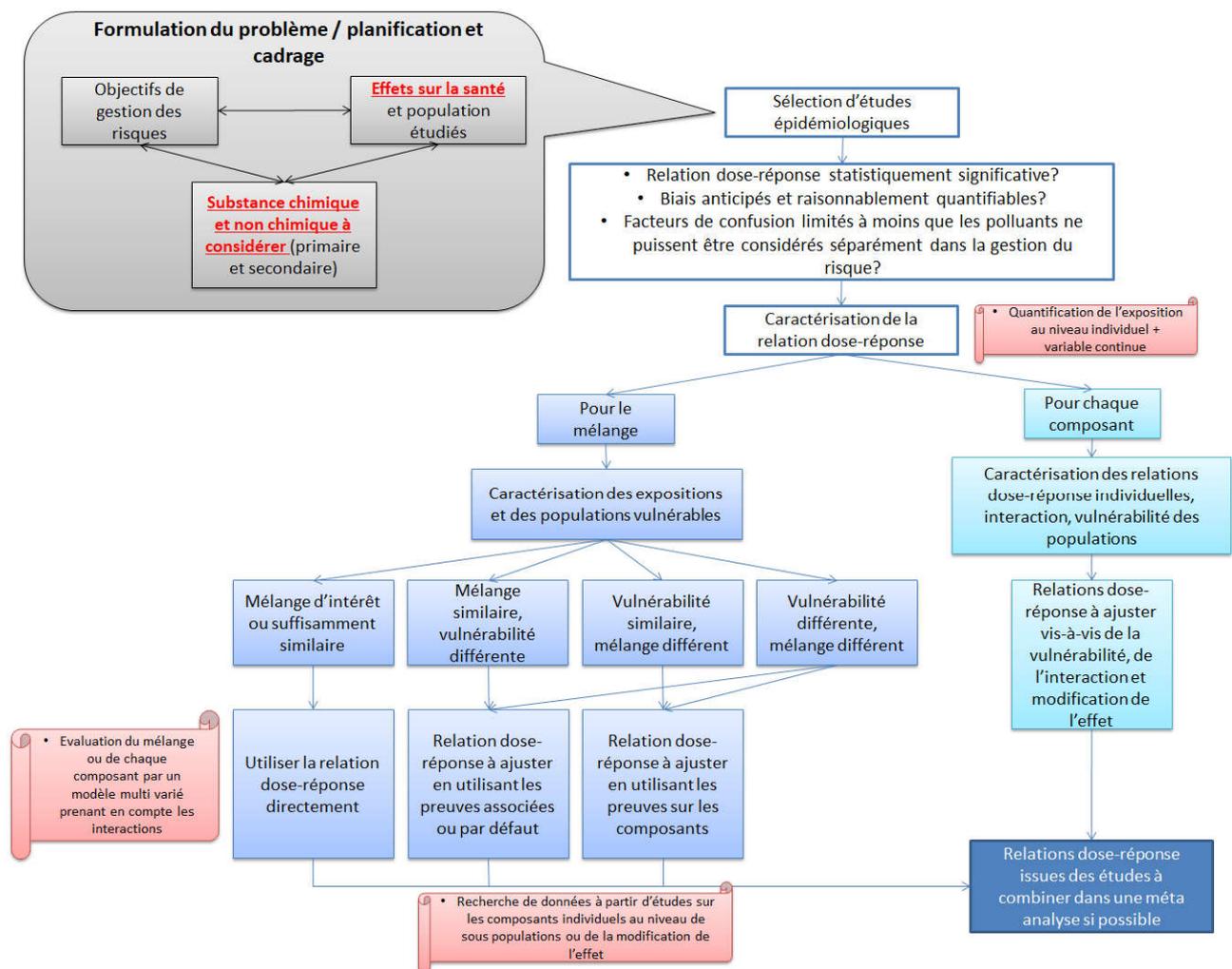


Figure 6 : Approche conceptuelle sur l'analyse des données épidémiologiques pour l'évaluation du risque cumulé (figure traduite et enrichie à partir de la proposition de Levy, 2008)

A la lecture de ce schéma, il ressort que les études épidémiologiques, pour être utilisables pour l'évaluation du risque cumulé doivent :

- Étudier la relation dose-réponse d'une exposition large de multiples polluants d'intérêt en considérant les interactions et les autres effets. Les polluants considérés rejoignent les attentes de gestion du risque et peuvent contribuer aux maladies ou symptômes étudiés.

- Expliciter et quantifier toutes les dimensions de la vulnérabilité incluant les différences d'exposition, la susceptibilité/sensibilité, la vulnérabilité liée à l'environnement social et au comportement, et la capacité d'étudier l'effet sur la santé.
- Etudier une population similaire en termes de vulnérabilité et d'exposition à celles étudiées ou au moins incluant des sous-populations pertinentes sur ces considérations avec des analyses stratifiées adéquates.

La majorité des études épidémiologiques ne répondent pas à tous ces critères. L'approche conceptuelle propose donc une façon d'analyser les données ainsi que les possibilités pour les prendre en compte. Braun *et al.* (2016) recommandent l'étude de chaque substance avec un modèle séparé, suivie d'une analyse pour plusieurs polluants. Cette deuxième analyse nécessiterait de choisir les polluants les plus pertinents ou de l'étendre à la nature de la corrélation entre les polluants.

Hernandez & Tsatsakis. (2017) convergent sur la pertinence des données épidémiologiques pour l'évaluation du risque cumulé car elles apportent des informations sur l'exposition humaine dans des conditions réelles permettant d'éviter l'extrapolation inter-espèce. Ils soulignent les difficultés et limites de l'épidémiologie et encouragent l'évaluation de la qualité des études. Ils ajoutent que les revues systématiques et méta-analyses sont particulièrement utiles pour synthétiser les données sur la caractérisation du danger et fournir une estimation plus précise de l'association en améliorant la puissance statistique. La complémentarité des études expérimentales notamment pour fournir des données sur la plausibilité biologique des associations mises en évidence dans les études épidémiologiques est soulignée. Cet article conclut sur l'importance de l'intégration des données toxicologiques et épidémiologiques pour améliorer l'utilité et la robustesse des évaluations des risques liés aux mélanges et de sa nécessité dans les processus de décision.

L'approche "*Similar Mixtures Risk Indicator*" (SMRI) développée dans le cadre du projet européen EDC-MixRisk intègre les données épidémiologiques et expérimentales pour l'évaluation des risques en utilisant des méthodes biostatistiques innovantes. Ce projet relie les résultats d'études d'observation humaine à l'échelle populationnelle à des données provenant de tests expérimentaux de mélanges environnementaux pour renforcer la preuve du risque lié aux expositions environnementales (Bornehag *et al.*, 2019).

Les données épidémiologiques sont utilisées pour identifier les mélanges de perturbateurs endocriniens les plus dommageables sur trois domaines de santé (croissance et métabolisme, développement neurologique et développement sexuel). Les données expérimentales (*in vivo* et *in vitro*) sont utilisées pour estimer les relations dose-réponse et déterminer les doses ou les concentrations les plus faibles d'une exposition à des mélanges ayant perturbé des mécanismes moléculaires pendant les phases précoces du développement. La démarche d'évaluation des risques utilise notamment une stratégie de mélange global avec une mesure statistique de similarité pour générer un indicateur de risque de mélange similaire (SMRI).

Marshall *et al.* (2013) ont décrit cette approche de similitude de différents mélanges candidats par rapport à un mélange de référence. Il s'agit de substituer un mélange à un autre mélange proche (c.-à-d. ayant les mêmes composants que le mélange étudié, mais dans des proportions différentes) dont les expositions et la toxicité sont connues. Pour chaque mélange candidat et pour le mélange de référence, une modélisation de la relation dose-réponse permet de calculer des Benchmark dose (BMD). Le mélange de référence est donc un mélange pour lequel on dispose d'une relation dose-

réponse expérimentale. La distance euclidienne entre la BMD du mélange de référence et la BMD du mélange candidat est mesurée.

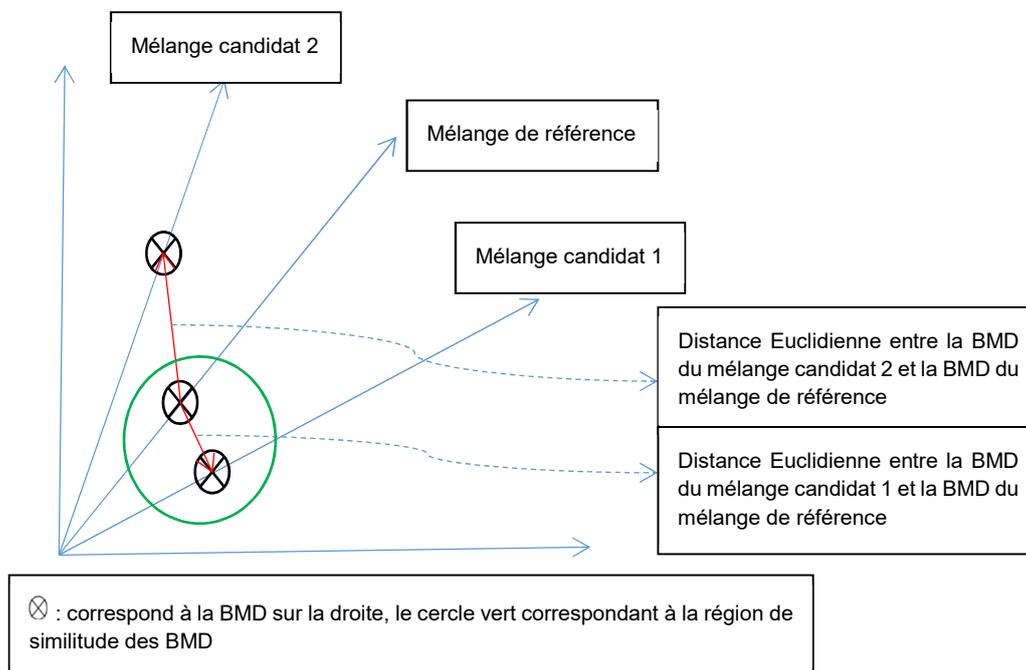


Figure 7 : Evaluation graphique du SMRI

Les auteurs comparent les distances euclidiennes des BMD des contaminants des mélanges dans un modèle à x dimensions (x = nombre de substances du mélange) avec la BMD du mélange de référence (qu'il est nécessaire de connaître) (Figure 7). En fonction de la quantité de données et de leurs valeurs, une distance de similitude est définie pour une dose donnée. Si la distance entre la BMD du mélange de référence et celle du mélange étudié est inférieure à cette distance de similitude, il est conclu à une similitude suffisante des mélanges, et un SMRI est calculé soit :

- en faisant la somme des ratios de l'exposition de chaque contaminant du mélange comparée à la VTR du mélange de référence *ad hoc* [calculée à partir de la BMDL du mélange de référence divisé par des UF] (approche SMRI/HI),
- soit en faisant le ratio de la somme des expositions pondérées des RPF sur la VTR du contaminant index du mélange considéré (approche SMRI/RPF).

Marshall *et al.* (2013) illustrent cette méthode par un exemple utilisant des données de la « *first national environmental health survey of child care centers* », où sont mesurés les niveaux de pesticides dans 168 crèches en 2001 (représentativité nationale, US). Seules les données de contamination de poussières déposées pour 15 pyréthriinoïdes ont été considérées (5 pyréthriinoïdes représentaient la majorité des proportions : cyperméthrine, deltaméthrine, esfenvalérate, perméthrine et cyfluthrine). Les profils de pyréthriinoïdes différaient pour les 168 lieux (un mélange particulier pour chaque prélèvement) et 126 lieux ont été étudiés (exclusion des lieux où toutes les données étaient < LD).

Dans un premier cas, les auteurs ont utilisé les données dose-réponse de deux mélanges connus (e.g. pour lesquels des données expérimentales existent) : l'un de 11 pyréthriinoïdes avec les proportions déterminées à partir des BMD₂₀ (Wolansky *et al.*, 2005), et l'autre de 5 pyréthriinoïdes avec les proportions déterminées selon l'étude dans les crèches. Dans un second cas, les auteurs

ont utilisé les proportions des 126 lieux pour les 15 pyréthriinoïdes analysés. Les données de relations dose-réponse étaient disponibles uniquement pour le mélange de 5 pyréthriinoïdes pris en référence mais pas pour les 15 pyréthriinoïdes. Les BMD ont donc été estimées à partir d'une équation pour compléter les relations doses-réponses. Les auteurs concluent à une similitude des mélanges dans 90 % des 126 lieux étudiés, considérant au moins un contaminant parmi les 15 pyréthriinoïdes similaire au mélange de référence. Le calcul du SMRI ne mettait pas en évidence de risque dans ce cas (SMRI = 0,20 < 1).

Cinq études épidémiologiques s'intéressant aux effets de mélanges de polluants ont été identifiées dans la revue de la littérature réalisée dans le cadre de cette expertise. Il s'agit de :

- Trois études portant sur l'exposition professionnelle dans lesquelles l'évaluation de l'exposition repose sur la reconstruction de l'exposition par le biais de matrices emploi-exposition (Seeber *et al.*, 1996 ; Olsson *et al.*, 2010 ; Moehner *et al.*, 2013). Différents indices ou scores sont utilisés. Seeber *et al.* (1996) font référence à l'*hygienic effect* (HE) fondé sur l'hypothèse d'additivité des effets. Celui-ci prend en compte les valeurs limites d'exposition professionnelle de chaque contaminant.
- Deux études sur l'exposition environnementale ont intégré l'analyse classique considérant un modèle à un polluant et des modèles combinant les expositions (Winquist *et al.*, 2014 ; Christensen *et al.*, 2011).

Winquist *et al.* (2014) ont étudié les corrélations entre les différents polluants atmosphériques et mettent en évidence une surestimation de la relation dans les modèles classiques à un polluant ainsi que l'importance de l'interaction entre certains contaminants représentant des facteurs de confusion à prendre en compte.

Christensen *et al.* (2011) ont étudié la non-linéarité et la non-monotonie de la relation entre l'hypertension artérielle et l'exposition aux PCB. L'analyse de la corrélation et de la colinéarité entre les différents congénères de PCB sanguins suivie d'une analyse par cluster fait ressortir les congénères qui sont les plus informatifs concernant le risque d'hypertension.

Les 3 tomes du rapport de recherche 183 de l'institut américain de santé publique (HEI) présentent une synthèse de 3 études commanditées investiguant des méthodes épidémiologiques pour prendre en compte l'effet de l'exposition à de multiples polluants de l'air (HEI, 2015 ; 2016). Les méthodes statistiques bayésiennes ont été utilisées afin d'intégrer les données antérieures et les nouvelles dans une même analyse telles que les covariables comme le statut socio-économique.

De très nombreux facteurs environnementaux agissent en tant que mélanges et en interaction avec d'autres facteurs (socio-économiques, comportementaux) pour induire des changements dans les phénotypes étudiés ou augmenter le risque de développer des pathologies.

3.4.2 Données issues des études sur l'exposome

3.4.2.1 Introduction

Les expositions réelles à prendre en compte dans les études épidémiologiques sont désignées sous le concept d'exposome, décrit pour la première fois par Wild en 2005. Il repose sur une vision large de l'exposition et prend en compte la totalité des expositions à des facteurs environnementaux (c'est-à-dire non génétiques) (Figure 8) en intégrant la composante temporelle de la conception à la mort. Des périodes d'exposition clefs à documenter sont proposées en lien avec la susceptibilité d'organes cibles : grossesse, enfance, puberté et années de procréation (Wild, 2012 ; Shaffer *et al.*, 2017). Le

concept d'exposome intègre également les facteurs sociaux, comportementaux, géographiques et démographiques qui caractérisent le milieu de vie (Wild, 2012). Une approche pluridisciplinaire est nécessaire associant les sciences humaines et sociales notamment sur les questions d'inégalités de santé (Juarez *et al.*, 2014 et 2020) et de justice sociale (Senier *et al.*, 2017) ainsi que la toxicologie pour mieux comprendre l'impact sur les réponses biologiques (Miller *et al.*, 2014).

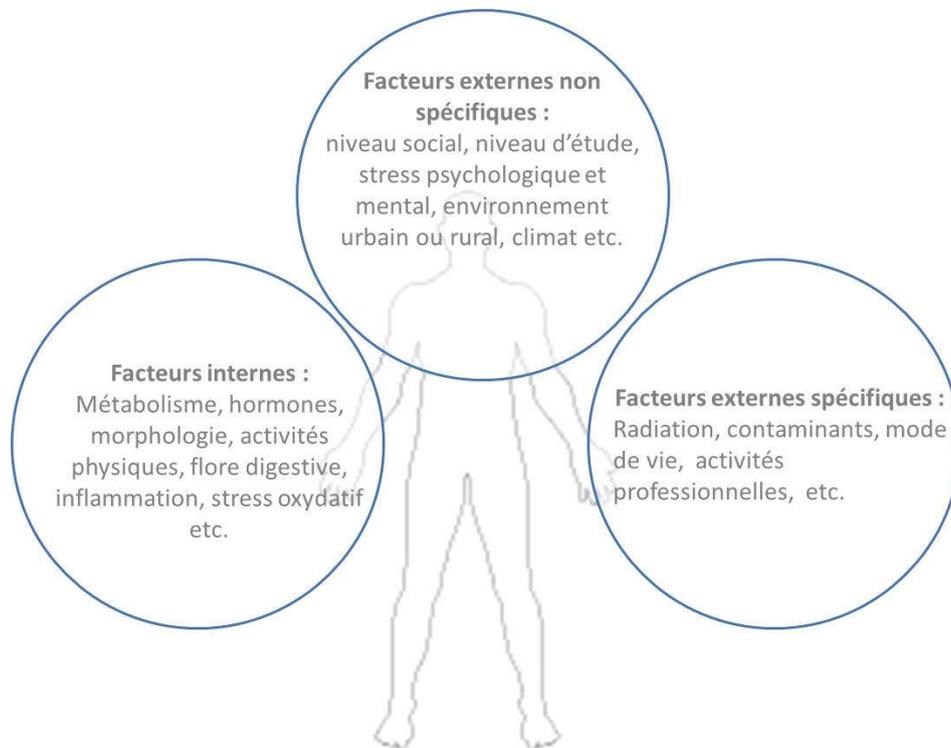


Figure 8 : Concept d'exposome avec ses trois principaux facteurs d'exposition (Wild, 2012)

Une analyse linguistique des publications sur l'exposome (261 articles) met en évidence l'impulsion des travaux de recherches à partir de 2011 et identifie les principaux termes associés au concept. La caractérisation de l'exposition environnementale est majoritairement mentionnée (Kiossoglou *et al.*, 2017). Une autre analyse des publications sur l'exposome met en avant les avancées dans le domaine de la santé humaine issues notamment des projets de recherche cités à la suite de ce paragraphe (Haddad *et al.*, 2019). Les indicateurs de santé étudiés sont : symptômes respiratoires et allergiques, diabètes, cancer, maladie cérébro-cardiovasculaires, sarcoïdose, maladie de Crohn, syndrome des ovaires polykystiques, la qualité du sperme, le stress oxydant et l'incidence de maladies professionnelles. L'inclusion des 3 principaux facteurs est faite dans 48% des études analysées contre 42% se limitant aux domaines des facteurs externes spécifiques et internes.

3.4.2.2 Projets de recherche sur l'exposome

Les projets de recherche sur l'exposome lancés en particulier dans l'Union européenne sont brièvement décrits ci-après :

- le projet HELIX (www.projecthelix.eu/fr) combine les risques environnementaux auxquels les mères et les enfants sont exposés et l'étude des associations avec la croissance, le développement et la santé des enfants (Vrijhied *et al.*, 2014). Deux-cent trente quatre variables d'exposition ont été évaluées et couvrent des périodes d'exposition différentes

(prénatale et postnatale) (Cadiou *et al.*, 2020) ce qui permet d'étudier leur corrélation, profil et variabilité au sein et entre les 6 cohortes (Tamayo-Uria *et al.*, 2019). Les prélèvements biologiques réalisés constituent une biobanque importante pour la recherche de biomarqueurs, notamment de contaminants environnementaux tels que des composés organochlorés, polybromés, fluorés, phtalates, phénols etc. (Haug *et al.*, 2018) et des analyses « omics » (Maitre *et al.*, 2018) ;

- le projet EXPOsOMICS (www.exposomicsproject.eu/) développe une nouvelle approche pour évaluer les expositions environnementales avec un focus sur la pollution de l'air et les contaminants de l'eau, en étudiant les associations avec de nombreux profils « omics » (Vineis *et al.*, 2017) ;
- le projet Heals (www.heals-eu.eu/) propose « l'intégration fonctionnelle de données « omics » et de biosurveillance biochimique pour créer l'exposome interne au niveau individuel ». Les biomarqueurs d'exposition disponibles et d'intérêt par rapport aux expositions du projet HEALS ont été étudiés spécifiquement en lien avec les niveaux de références¹⁶ (Steckling *et al.*, 2018). Près de 30 facteurs de risques dont le niveau de métaux et éléments trace dans le sang au cordon ont été pris en compte (Calamandrei *et al.*, 2020).
- Le projet ATHLETE entend mettre au point une boîte à outils de nouvelle génération pour étudier l'exposome et une cohorte prospective sur l'exposome afin de quantifier de manière systématique les effets d'un vaste éventail de facteurs de risque environnemental sur la santé respiratoire, cardiométabolique et mentale, et les voies biologiques connexes, pendant les 20 premières années de vie. Les réalisations du projet permettront de mettre en place des interventions faisables et acceptables sur l'exposome. Elles pourront également éclairer les recommandations politiques et les stratégies de prévention.
- Le projet LIFE-CROME (www.crome-life.eu/) a évalué l'exposition à des agents chimiques provenant soit d'une contamination environnementale, soit de produits de consommation par de multiples voies, à savoir l'inhalation, l'ingestion et le contact cutané dans cinq zones distinctes du sud de l'Europe. Elle a évalué l'exposition familiale globale aux pesticides organophosphorés et pyréthrinoides (Bravo *et al.*, 2020), le transfert de mélanges organohalogénés à travers le placenta maternel vers le fœtus (Vizcaino *et al.*, 2014) et l'influence de l'allaitement de la naissance à l'adolescence (Gascon *et al.*, 2014).
- Le projet Neurosome (<https://www.neurosome.eu/index.php/project/>) étudie les associations causales entre la prédisposition génétique, l'exposition cumulée à de multiples produits chimiques environnementaux chez les enfants et les troubles du développement neurologique. Il a évalué l'impact sur la santé de l'insecticide DDT neurotoxique chez les nouveau-nés (Bravo *et al.*, 2019), et les mélanges de composés neurotoxiques dans les populations vivant à proximité des usines de chlore-alcali (van Drooge *et al.*, 2018), dans les villes et dans la campagne (Gari *et al.*, 2018).

Aux États-Unis, le projet Hercules (<http://emoryhercules.com/>) et le projet NexGen développés en 2011 par l'US EPA visent à fournir une structure et une expertise clés pour développer et perfectionner de nouveaux outils et technologies pour la découverte, l'évaluation et l'application de l'exposome (DeBord, 2016 ; Pose-Juan *et al.*, 2016 ; Jones, 2016). Le programme *Children's health exposure analysis resource* - CHEAR (<https://chearprogram.org>) fournit d'une part l'accès aux chercheurs à des laboratoires et d'autre part la capacité d'analyse de données nécessaires à l'évaluation de l'exposition dans le cadre d'études sur la santé des enfants afin notamment d'appliquer le concept d'exposome (Johnson *et al.*, 2017).

¹⁶ human biomonitoring (HBM) / Biomonitoring equivalent (BE) : concentration of a chemical or metabolite in a biological matrix (blood, urine, human milk, etc.), consistent with defined exposure guidance values or toxicity criteria.

3.4.2.3 Développement et mise en œuvre de nouveaux outils et méthodes analytiques pour la caractérisation des expositions

Le concept d'exposome implique de nouveaux développements et outils pour caractériser l'exposition d'origine environnementale. L'évolution des méthodes biologiques (biomarqueurs, génétique et « omics ») représente un domaine important pour comprendre les modes d'action (extrapolation inter-espèces mais également d'étude aiguë à chronique) ainsi que la signature biologique ou moléculaire de l'exposition avec la recherche de contaminants parents et métabolites (Fox *et al.*, 2017 ; Go *et al.*, 2015, Walker *et al.*, 2019 ; Thakur & Roy , 2020 ; Vineis *et al.*, 2020) ou d'une période clef. Par exemple, la mesure dans le cordon ombilical ou les dents de lait est utilisée en biosurveillance pour caractériser l'exposition prénatale (Andra, 2015) alors que la mesure à partir de cheveux (Appenzeller *et al.*, 2020) ou encore d'ongles (Bocato *et al.*, 2019) est utilisée pour approcher l'exposition chronique. Ces 2 dernières matrices restent toutefois débattues dans la communauté scientifique. Il s'agit également de coupler des approches classiques de caractérisation des expositions (dose externe d'un individu ou d'une population) à ces nouvelles approches (Peters *et al.*, 2012).

L'analyse de la littérature sur l'exposome fait ressortir la proposition de méthodes analytiques qui permettent d'étendre l'identification des substances, notamment par des techniques de spectrométrie de masse associant des spectrométries à mobilité ionique (Metz *et al.*, 2017) ou faisant appel à des techniques à haute résolution (Go *et al.*, 2015 ; Jones, 2016 ; Andra *et al.*, 2017, Getzinger *et al.*, 2020) avec la combinaison des chromatographies en phase liquide et gazeuse ou encore la chromatographie gazeuse bidimensionnelle (Wegglar *et al.*, 2020) pour élargir l'identification. Sont distinguées les recherches ciblées de celles non ciblées dites sans *a priori* telles que les « omics ». Le suivi de différentes étapes pour l'analyse des données appuyée par des outils informatiques ainsi que des banques de données sont nécessaires pour la standardisation des mesures (Xue *et al.*, 2019). L'Institut américain de normalisation et de référence (NIST) propose un matériau de référence (SRM 1950) et une base de données spectrales en ligne pour l'analyse des substances chimiques. L'identification des substances chimiques notamment au niveau structural est un enjeu majeur pour l'étude de l'exposome (Johnson *et al.*, 2017).

Des projets scientifiques et initiatives citoyennes ont été engagés récemment avec l'utilisation de micro-capteurs ou capteurs portatifs pour le suivi de la qualité de l'air extérieur et intérieur (Jiang *et al.* 2018) ou d'application sur smartphone sur les activités pratiquées et les repas consommés (Bocato *et al.*, 2019 ; Martin-Sanchez *et al.*, 2020). Elles peuvent contribuer à mieux connaître l'exposition individuelle (Beans, 2018). Par exemple, deux études de panel conduites chez des femmes enceintes et des enfants dans le cadre du projet HELIX ont caractérisé l'exposition des participants avec le port d'un kit comprenant ce type de technologies (Figure 9) sur 2 période de mesures de 2 semaines (Donaire-Gonzalez *et al.* 2019).



Figure 9 : Kit de mesure utilisé dans le cadre du projet HELIX pour caractériser l'exposition individuelle (Donaire-Gonzalez *et al.* 2019)

La génération de données pluridisciplinaires, leur compilation et leur analyse soulèvent des enjeux méthodologiques et informatiques importants (Juarez *et al.*, 2014 ; Sarigiannis *et al.*, 2017).

3.4.2.4 Création de bases de données

Des bases de données sont proposées pour mettre à disposition les informations nécessaires à l'étude de l'exposome, telles que :

- la base Toxin-Toxin-Target Database (T3DB ; www.t3db.ca) portant sur environ 2900 substances auxquelles l'Homme peut être exposé, créée en 2010 et mise à jour régulièrement depuis (Wishart *et al.*, 2015).
- la base Comparative Toxicogenomics Database (CTD ; <http://ctdbase.org>) créé en 2004 et orientée initialement sur les données toxicologiques d'interaction entre les substances et les gènes en lien avec les maladies. Les mises à jour récentes, notamment celles de 2017, ouvrent un module spécifique compilant les données d'expositions environnementales pour faire le lien avec les données toxicologiques de laboratoire (Davis *et al.*, 2017).
- la base ToxCast de l'US EPA (<https://www.epa.gov/chemical-research/exploring-toxcast-data-downloadable-data>) : mise à jour régulièrement avec les données d'essais *in vitro* sur plus de 3000 substances chimiques (Bessonneau & Rudel, 2019)
- la base Exposome-Explorer (<http://exposome-explorer.iarc.fr>) dédiée aux biomarqueurs d'exposition de facteurs de risque environnemental fournissant des informations détaillées sur la nature, la concentration des biomarqueurs ainsi que la population d'étude, les méthodes de mesures et les corrélations avec les autres expositions (Agache *et al.*, 2019). Cette base lancée en 2012 a été mise en ligne en 2017. La deuxième version Exposome-Explorer 2.0 a été enrichie pour les biomarqueurs d'intérêt pour l'exposition alimentaire et le risque de cancer (Neveu *et al.*, 2020)
- la base Blood Exposome Database (<http://bloodexposome.org>) compilant les données de la littérature (Pubmed, PMC) et de bases de données comme Human Metabolome Database (HMDB) (www.hmdb.ca/) sur les substances endogènes et exogènes dans le sang (Barupal *et al.*, 2019)
- la base de données CIL-EXPOSOME fournissant une plateforme analytique pour identifier les biomarqueurs urinaires à partir d'isotopes (https://drive.google.com/drive/folders/1i1UNhfwMh_ry97TH6-FKGE_m_A-i-oleU?usp=sharing) (Jia *et al.*, 2019)

3.4.2.5 Développement et mise en œuvre de méthodes statistiques

Le choix de la méthode statistique est aussi important lorsque des centaines voire des milliers d'hypothèses sont en jeu.

De plus, l'hypothèse étudiée en épidémiologie sur les effets d'une exposition à plusieurs polluants est différente de celle étudiée en toxicologie (additivité, synergie, antagoniste) et qui repose sur des courbes dose-réponse pouvant être différentes (Howard and Webster, 2013).

Le nombre d'expositions possibles à étudier dans les associations exposition-phénotype relève d'un défi analytique (Johnson *et al.*, 2017). L'analyse des corrélations des expositions est nécessaire dans chaque étude portant sur l'exposome qui peut varier au cas par cas et avoir des répercussions sur les analyses d'association avec des indicateurs sanitaires et leur interprétation (Santos *et al.*, 2020). Des représentations graphiques (carte, réseau) permettent de visualiser les corrélations.

Aussi, il peut s'agir de se concentrer sur les co-expositions les plus fréquentes dans la population en estimant la corrélation entre chaque variable d'expositions et en "groupant" les expositions fortement corrélées à l'aide de techniques "d'apprentissage automatique non supervisé" (Patel & Manrai, 2015). Par exemple, une analyse des corrélations de 81 expositions environnementales chez 728 femmes enceintes espagnoles a été réalisée par une analyse en composantes principales. Elle identifie 9 expositions hautement corrélées ($r > 0,5$) et 26 avec une corrélation élevée ($r \geq 0,4$). La 1^{ère} composante principale intègre la pollution extérieure (pollution de l'air, densité urbaine, bruit, température de surface et espaces verts). La 2^{ème} des familles de polluants chimiques (PFAS, PBDE, phtalates, métaux). Cette étude a fourni une première image de la structure de l'exposome pendant la période *in utero* (Robinson *et al.*, 2015). Un autre exemple, par analyse non supervisée réalisée à partir d'une base d'environ 12 000 données environnementales, sociales et de santé recueillies de 1990 à 2010, une étude (Juarez *et al.*, 2014) a identifié les prédicteurs sociaux et environnementaux de l'obésité dans 3106 comtés américains de plus de 100 000 personnes (Gittner *et al.*, 2017).

Des méthodes de réduction de dimension non supervisées sont également proposées comme l'analyse en composantes principales, l'analyse factorielle et la factorisation matricielle non négative (Kalia *et al.*, 2020) ainsi que les approches par cluster identifiant des groupes d'individus partageant des caractéristiques similaires (Santos *et al.*, 2020). La construction d'un score d'exposome à partir de 2 bases de données indépendantes a été réalisée pour évaluer l'association entre l'exposition aux facteurs environnementaux avec la schizophrénie (Pries *et al.*, 2019).

Trois types de méthodes d'analyses statistiques existent pour étudier l'association entre l'exposome et la santé telle que : (1) considérant une exposition unique - l'étude d'association sur tout l'environnement (EWAS) et notamment sa version en deux étapes (EWAS₂) et l'étude spécifique de l'exposome (ExWAS), l'étude de l'exposome et métabolome (EMWAS), l'étude des interactions gène-environnement (GEWIS), (2) les techniques de sélection des variables - *Elastic net* (ENET) GUESS (*Graphical Unit Evolutionary Stochastic Search*), la suppression/substitution/addition (DSA), la régression pénalisée (LASSO), et (3) la technique de réduction des dimensions - la régression des moindres carrés partiels épars (sPLS) (Santos *et al.*, 2020). Agier *et al.* (2016) ont montré dans une étude de simulation les limites de ces méthodes pour sélectionner les expositions d'intérêt lorsque les expositions sont corrélées, bien que GUESS et DSA fournissent un meilleur équilibre entre sensibilité et spécificité que les autres méthodes. Le projet HELIX regroupant 6 cohortes de naissances européennes a permis l'application de la méthode DSA pour étudier simultanément de nombreuses variables d'exposition prénatale et dans l'enfance ainsi que l'application de la méthode ExWAS pour étudier l'ensemble de ces variables de façon indépendante (Agier *et al.*, 2019 ; Nieuwenhuijsen *et al.*, 2019 ; Vrijheid *et al.*, 2020).

En considérant des scénarios avec interactions entre les facteurs d'expositions, et en supposant la linéarité des effets, ils ont montré que les méthodes Group-Lasso INTERaction-NET (GLINTERNET) et DSA₂ sont deux techniques qui peuvent être utilisées (Barrerra-Gomez *et al.*, 2017). Bien que prometteuses, ces méthodes sont encore sous-performantes dès lors que le nombre d'expositions corrélées augmente et influence donc l'identification des mélanges (Siroux *et al.*, 2016 ; Patel , 2017).

Les applications de ces méthodes en épidémiologie environnementale ont été mises en pratique ces dernières années ; la méthode EWAS étant la plus utilisée. Il est décrit succinctement ci-dessous les objectifs des études identifiées dans la revue de la littérature :

1. Rôle des facteurs de risque environnementaux avant la conception et durant la période encadrant la grossesse appartenant à 10 domaines (personnalités des parents, santé, développement, éducation, variables socioéconomiques, style de vie, environnement familial et social, événements de la vie et expositions chimiques) en lien avec les difficultés de communication chez les enfants à l'âge de 9 ans dans l'étude ALSPAC (Steer *et al.*, 2015). Dans la même étude, l'influence de facteurs d'exposition transgénérationnelles remontant aux environnements et expériences des grands-parents (éducation, tabagisme etc.) a été étudiée en lien avec la masse grasse du corps à l'âge adulte (Golding *et al.*, 2019). Cette étude souligne l'importance de caractériser l'exposome avant la conception,
2. Influence de diverses sources d'exposition aux métaux (pollution de l'air, port de bijoux, couronnes dentaires, habitudes alimentaires, tabac) et de facteurs socio-économiques sur les niveaux de métaux dans le sang chez 453 adolescents italiens âgés de 13 à 15 ans (Pino *et al.*, 2017),
3. Contribution de la contamination environnementale due à la gestion des déchets dans l'environnement urbain et périurbain sur le développement neurologique de 350 enfants âgés de 3 à 8 ans de la cohorte HERACLES (Sarigiannis, 2017 ; Sarigiannis & Karakitsios, 2018).
4. Association entre l'exposition à un mélange de 128 perturbateurs endocriniens mesurés dans l'urine ou sérum et 7 indicateurs de la qualité du sperme du partenaire masculin de 501 couples américains dans l'étude LIFE (Chung *et al.* 2019)
5. Identification des signatures métaboliques urinaires associées à l'exposition à de multiples polluants environnementaux chez 750 femmes enceintes dans l'étude l'INMA (Maitre *et al.*, 2018)
6. Etude de l'exposition de l'enfant (prénatale et enfance) par l'analyse épigénétique par le concept de méthylome (méthylation de l'ADN) en lien avec l'indice de masse corporelle (IMC) de 1 173 d'enfants du projet HELIX (Cadiou *et al.*, 2020)
7. Etude des facteurs externes d'exposition pendant la grossesse sur le risque d'hypertension chez 819 399 femmes en Floride. 5784 facteurs issus de 10 bases de données ont été considérés (Hu *et al.*, 2020)
8. Lien entre l'exposition prénatale à 37 pesticides et 161 métabolites recherchés dans le sang maternel et le poids à la naissance et la durée de la gestation du nourrisson chez 102 femmes enceintes suivies en milieu hospitalier en Chine (Yang *et al.*, 2020)

En France, le réseau national de vigilance et de prévention des pathologies professionnelles (RNV3P), créé en 2001 dans un but de surveillance des associations pathologies-expositions professionnelles, a réalisé des analyses des données observationnelles avec la construction de l'exposome associant plusieurs facteurs d'exposition et la structure de groupes d'exposition. Faisandier *et al.*, (2011) illustrent ce travail avec l'analyse des données concernant les lymphomes non hodgkiniens (LNH) qui permet de traiter la multi-exposition apportant de nouveaux éléments sur l'hypothèse d'association du LNH avec les solvants et diluants organiques, les produits agricoles et les radiations ionisantes ainsi qu'avec d'autres groupes d'exposition.

Fox *et al.* (2017) soulignent l'intérêt des données épidémiologiques pour étudier des contaminants non chimiques. Par exemple, l'utilisation de systèmes d'information géographique (SIG) contribue à l'étude des variations spatiales des indicateurs de santé et des facteurs d'expositions environnementales afin notamment de comprendre des facteurs associés aux inégalités de santé.

Ces données sont utiles pour l'évaluation du risque cumulé, notamment afin d'approfondir l'approche par indépendance d'action par rapport à l'additivité des concentrations (Fox *et al.*, 2017 ; Wishart *et al.*, 2015).

En conclusion, de nouvelles méthodes statistiques doivent encore être proposées, et de plus grands ensembles de données basées sur la connaissance de l'exposome doivent être construits pour aider à l'interprétation des résultats et traiter la complexité et le grand nombre de mélanges potentiels qui pourraient expliquer la variabilité phénotypique (Siroux *et al.*, 2016 ; Patel , 2017 ; Kim & Hong, 2017).

4 Conclusions et recommandations

L'Anses élabore différentes valeurs de référence utiles, d'une part, pour l'évaluation des risques sur la santé, et, d'autre part, aux pouvoirs publics en vue de fixer des concentrations réglementaires de substances chimiques qu'il convient de ne pas dépasser pour préserver notre santé. Jusqu'à présent, il n'était proposé que des valeurs pour une substance individuelle s'affranchissant de l'exposition complexe de la population. Ce rapport constitue une première phase de l'analyse des mélanges décrivant les concepts existants.

Compte tenu de cet état de l'art, la question des mélanges, si elle reste complexe, peut aujourd'hui être traitée dans les démarches d'expertise, considérant l'existence d'un savoir-faire et de développement de modèles simplifiés faisant consensus.

En évaluation des risques pour la santé, quelques exemples de dispositions réglementaires ressortent notamment pour l'exposition *via* l'alimentation (résidus de pesticides et eaux destinées à la consommation humaine) et l'étude de l'impact d'installations industrielles sur l'environnement et le voisinage. Des recommandations d'organismes institutionnels (US-EPA, ATSDR, EFSA, SCHER) soulignent l'importance de leur mise en application et formalisent des approches méthodologiques prenant en compte l'interaction ou non des contaminants.

L'hypothèse la plus recommandée repose sur le concept d'additivité des doses ou des réponses. De nombreuses études ont testé le modèle d'additivité des doses (ou concentrations) pour différents mélanges et ont montré que globalement, ce modèle prédit raisonnablement la toxicité des mélanges de contaminants ayant des propriétés toxicologiques semblables sur un organe ou système cible, aux faibles doses/concentrations.

L'exploration du concept d'interaction nécessite des modèles intégrant les notions d'antagonisme et de synergie pour mieux comprendre et prendre en compte les bases mécanistiques des interactions, ainsi que les expositions à des doses/concentrations relativement élevées. Cependant aux faibles doses, les interactions restent peu susceptibles de générer un résultat très différent au regard des incertitudes inhérentes à la démarche même d'évaluation des risques.

Une évolution de la réglementation des substances chimiques en cours de discussion vise à considérer l'exposition à un mélange de substances, lorsque les données sont insuffisantes pour caractériser les situations de co-exposition ou leurs effets sur la santé et ce, par l'application d'une approche pragmatique reposant sur l'utilisation d'un facteur d'évaluation des mélanges (MAF).

Ce travail a permis d'émettre des recommandations concernant l'élaboration de valeurs de référence pour un mélange d'une part sur le choix des contaminants, et d'autre part sur les méthodes à employer pour la construction de valeurs de référence pour un mélange.

4.1 Choix des substances

L'analyse d'un mélange présuppose une bonne connaissance de l'exposition réelle de la population concernée aux différentes substances chimiques, ainsi que l'identification des familles de substances ayant des effets ou des mécanismes semblables.

Il est recommandé de tenir compte de 2 aspects en parallèle :

→ **Identifier les substances auxquelles la population est co-exposée** en se basant sur des études représentatives des expositions de la population ou de sous-groupes de populations. Les

enquêtes à utiliser doivent être adaptées à la question posée (ex : programme de biosurveillance de Santé publique France, données de l'OQAI, données des études de l'alimentation totale conduites par l'Anses ...). L'exploitation de ces données permettrait de faire émerger les profils de co-exposition les plus pertinents à considérer.

- **Regrouper les substances à des niveaux hiérarchiques du vivant différents sur la base d'effets ou de mécanismes communs en fonction des données disponibles.** Il est possible d'utiliser pour cela les cadres conceptuels ou arbres décisionnels décrits dans le chapitre 3.2.2.

4.2 Sélection d'un modèle de construction

Dans la plupart des cas, l'exposition environnementale à différentes substances correspond à des niveaux de faible concentration et ne conduit pas à des interactions chimiques ou métaboliques entre les constituants du mélange. Dans ces cas, l'additivité des doses peut conduire à des résultats acceptables au regard de l'incertitude inhérente à la démarche d'évaluation des risques, dont le modèle sert de base à la proposition de valeurs guides.

S'il existe aujourd'hui des modèles prenant en compte les interactions lors de l'analyse de risque, ceux-ci sont complexes et requièrent la connaissance d'un certain nombre de paramètres, lesquels ne sont souvent pas connus. Il est donc difficile de les généraliser.

- **Réaliser des profils toxicologiques** intégrant les données sur les interactions potentielles pour les co-expositions les plus fréquentes ;
- **Utiliser l'hypothèse d'additivité**, si les données recueillies dans les profils ne la remettent pas en cause (donc en approche par défaut) :
- selon une approche simplifiée d'additivité (à la façon du HI) pour les substances dont le mécanisme n'est pas suffisamment connu, tel que proposé dans le schéma conceptuel de Meek *et al.* (2011) (Figure 2). Ceci permet de limiter de manière significative le risque lié à l'exposition à des mélanges en se focalisant sur cette ou ces quelques substances déterminantes.
 - selon une approche d'additivité des doses telle que déjà développée pour les dioxines (à la façon du RPF ou du TEF), pour toutes les substances ayant des mécanismes ou des conséquences cellulaires communes, par exemple pour certains pesticides, certaines familles de congénères (PBDE, PFC) ou pour les substances ayant une action anti-androgène (recommandation NRC même si pas de mécanisme commun) ;
- **Compléter cette approche par l'identification du ou des constituants du mélange les plus contributeurs au risque.**

Par ailleurs, il serait nécessaire d'analyser les facteurs d'équivalence toxique (TEF), généralisés sous l'appellation « *relative potency factor* » (RPF) s'intéressant aux mélanges déjà disponibles dans la littérature. Une analyse critique par l'Anses permettrait une reconnaissance institutionnelle, et faciliterait la déclinaison en valeurs de référence.

Date de validation du rapport d'expertise collective par le comité d'experts spécialisé « Valeurs sanitaires de référence » : 11 mars 2022.

5 Bibliographie

- **Sources** : Scopus et Pubmed
- **Date de début** : 24/05/2016
- **Date de fin** : 03/09/2020

Afssa (2007) Evaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement des limites et références de qualité des eaux destinées à la consommation humaine. Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Juin 2004 à avril 2007 – Tome 1. 250 pages.

Agache, I., R. Miller, J. E. Gern, P. W. Hellings, M. Jutel, A. Muraro, W. Phipatanakul, S. Quirce, and D. Peden. 2019. "Emerging concepts and challenges in implementing the exposome paradigm in allergic diseases and asthma: a Practall document." *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* 74 (3):449-463. doi: 10.1111/all.13690.

Agier, L., X. Basagaña, L. Maitre, B. Granum, P. K. Bird, M. Casas, B. Oftedal, J. Wright, S. Andrusaityte, M. de Castro, E. Cequier, L. Chatzi, D. Donaïre-Gonzalez, R. Grazuleviciene, L. S. Haug, A. K. Sakhi, V. Leventakou, R. McEachan, M. Nieuwenhuijsen, I. Petraviciene, O. Robinson, T. Roumeliotaki, J. Sunyer, I. Tamayo-Uria, C. Thomsen, J. Urquiza, A. Valentin, R. Slama, M. Vrijheid, and V. Siroux. 2019. "Early-life exposome and lung function in children in Europe: an analysis of data from the longitudinal, population-based HELIX cohort." *The Lancet Planetary Health* 3 (2):e81-e92. doi: 10.1016/S2542-5196(19)30010-5.

Agier, L., L. Portengen, M. Chadeau-Hyam, X. Basagana, L. Giorgis-Allemand, V. Siroux, O. Robinson, J. Vlaanderen, J. R. Gonzalez, M. J. Nieuwenhuijsen, P. Vineis, M. Vrijheid, R. Slama, and R. Vermeulen. 2016. "A Systematic Comparison of Linear Regression-Based Statistical Methods to Assess Exposome-Health Associations." *Environ Health Perspect* 124 (12):1848-1856. doi: 10.1289/ehp172.

Ahlborg, U. G., G. C. Becking, L. S. Birnbaum, A. Brouwer, H. J. M. Derks, M. Feeley, G. Golor, A. Hanberg, J. C. Larsen, A. K. D. Liem, S. H. Safe, C. Schlatter, F. Waern, M. Younes, and E. Yrjänheikki. (1994) Toxic equivalency factors for dioxin-like PCBs. *Chemosphere* 28 (6):1049-1067. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0045-6535\(94\)90324-7](http://dx.doi.org/10.1016/0045-6535(94)90324-7).

Andersen, M. E., and J. E. Dennison. (2004) Mechanistic approaches for mixture risk assessments - Present capabilities with simple mixtures and future directions. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 16 (1-2):1-11. doi: 10.1016/j.etap.2003.10.004.

Andra, S. S., C. Austin, D. Patel, G. Dolios, M. Awawda, and M. Arora. (2017) Trends in the application of high-resolution mass spectrometry for human biomonitoring: An analytical primer to studying the environmental chemical space of the human exposome. *Environment International* 100:32-61. doi: 10.1016/j.envint.2016.11.026.

Andra, S. S., C. Austin, R. O. Wright, and M. Arora. (2015) Reconstructing pre-natal and early childhood exposure to multi-class organic chemicals using teeth: Towards a retrospective temporal exposome. *Environ Int* 83:137-45. doi: 10.1016/j.envint.2015.05.010.

Anses (2009). INCA2 (2006–2007). Report of the Individual and the National Study on Food Consumption, Agence nationale de sécurité sanitaire, Maisons-Alfort, France.

Anses (2011). INCA2 (2006–2007). Étude de l'alimentation totale française 2 (EAT 2) Tome 2 Résidus de pesticides, additifs, acrylamide, hydrocarbures aromatiques polycycliques. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - Saisine « 2006-SA-0361 ». Juin 2011

Anses. (2015). Expertise en appui à l'étiquetage des produits d'ameublement. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - Saisine « 2013-SA-0040 ». Juin 2015

Anses (2016b) Etude de l'alimentation totale infantile. Tome 2 – Partie 3 Composés organiques. Rapport d'expertise collective. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - Saisine « 2010-SA-0317 ». Septembre 2016

Anses (2017a) Valeurs toxicologiques de référence. Guide d'élaboration de l'Anses. Agence nationale de sécurité sanitaire. Rapport d'expertise collective. Juin 2017 186 pages.

Anses (2017b) Faisabilité de l'établissement d'une limite maximale globale de pesticides dans les aliments visant à protéger le consommateur de l'effet cumulé de ces substances. Note d'appui scientifique et technique de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relative à la Novembre 2017 13 pages.

Appenzeller, B. M. R., M. Chadeau-Hyam, and L. Aguilar. 2020. "Skin exposome science in practice : current evidence on hair biomonitoring and future perspectives." *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 34 (S4):26-30. doi: 10.1111/jdv.16640.

ATSDR. (2001) Guidance for the Preparation of an Interaction Profile. Agency for Toxic Substances and Disease Registry Public Health Service. Division of Toxicology. Atlanta:

ATSDR (2004) Guidance manual for the assessment of joint toxic action of chemical mixtures. . Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Audebert, M., F. Zeman, R. Beaudoin, A. Pery, and J. P. Cravedi. (2012) Comparative potency approach based on H2AX assay for estimating the genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicol Appl Pharmacol* 260 (1):58-64. doi: 10.1016/j.taap.2012.01.022.

Barrera-Gomez, J., L. Agier, L. Portengen, M. Chadeau-Hyam, L. Giorgis-Allemand, V. Siroux, O. Robinson, J. Vlaanderen, J. R. Gonzalez, M. Nieuwenhuijsen, P. Vineis, M. Vrijheid, R. Vermeulen, R. Slama, and X. Basagana (2017) A systematic comparison of statistical methods to detect interactions in exposome-health associations. *Environ Health* 16 (1):74. doi: 10.1186/s12940-017-0277-6.

Barupal, D. K., and O. Fiehn. 2019. "Generating the blood exposome database using a comprehensive text mining and database fusion approach." *Environmental Health Perspectives* 127 (9). doi: 10.1289/EHP4713.

Beans, C. 2018. "News Feature: Exposing the exposome to elucidate disease." *Proc Natl Acad Sci U S A* 115 (47):11859-11862. doi: 10.1073/pnas.1817771115.

Benson, R. (2009) Hazard to the developing male reproductive system from cumulative exposure to phthalate esters—dibutyl phthalate, diisobutyl phthalate, butylbenzyl phthalate, diethylhexyl phthalate, dipentyl phthalate, and diisononyl phthalate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 53 (2):90-101. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.11.005.

Bessonneau, V., and R. A. Rudel. 2019. "Mapping the Human Exposome to Uncover the Causes of Breast Cancer." *Int J Environ Res Public Health* 17 (1). doi: 10.3390/ijerph17010189.

Bil W, Zeilmaker M, Fragki S, Lijzen J, Verbruggen E, Bokkers B. Risk Assessment of Per- and Polyfluoroalkyl Substance Mixtures: A Relative Potency Factor Approach. *Environ Toxicol Chem*. 2021 Mar;40(3):859-870. doi: 10.1002/etc.4835. Epub 2020 Sep 8. PMID: 32729940.

Boberg J, Bredsdorff L, Petersen A, Löbl N, Jensen BH, Vinggaard AM, Nielsen E. (2021) Chemical Mixture Calculator - A novel tool for mixture risk assessment. *Food Chem Toxicol*. 2021 Jun;152:112167. doi: 10.1016/j.fct.2021.112167. Epub 2021 Apr 3. PMID: 33823229.

Bocato, M. Z., J. P. Bianchi Ximenez, C. Hoffmann, and F. Barbosa. 2019. "An overview of the current progress, challenges, and prospects of human biomonitoring and exposome studies." *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews* 22 (5-6):131-156. doi: 10.1080/10937404.2019.1661588.

Boobis, A., R. Budinsky, S. Collie, K. Crofton, M. Embry, S. Felter, R. Hertzberg, D. Kopp, G. Mihlan, M. Mumtaz, P. Price, K. Solomon, L. Teuschler, R. Yang, and R. Zaleski. (2011) Critical analysis of literature on low-dose synergy for use in screening chemical mixtures for risk assessment. *Crit Rev Toxicol* 41 (5):369-83. doi: 10.3109/10408444.2010.543655.

- Boon, P. E., H. Van der Voet, M. T. M. Van Raaij, and J. D. Van Klaveren. (2008) Cumulative risk assessment of the exposure to organophosphorus and carbamate insecticides in the Dutch diet. *Food and Chemical Toxicology* 46 (9):3090-3098. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2008.06.083>.
- Bopp, S. K., A. Kienzler, A. N. Richarz, S. C. van der Linden, A. Paini, N. Parissis, and A. P. Worth. 2019. "Regulatory assessment and risk management of chemical mixtures: challenges and ways forward." *Crit Rev Toxicol* 49 (2):174-189. doi: 10.1080/10408444.2019.1579169
- Borg, Daniel, Bert-Ove Lund, Nils-Gunnar Lindquist, and Helen Håkansson. (2013) Cumulative health risk assessment of 17 perfluoroalkylated and polyfluoroalkylated substances (PFASs) in the Swedish population. *Environment International* 59:112-123. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2013.05.009>.
- Borgert, C. J., J. S. LaKind, and R. J. Witorsch. (2003) A critical review of methods for comparing estrogenic activity of endogenous and exogenous chemicals in human milk and infant formula. *Environmental Health Perspectives* 111 (8):1020-1036. doi: 10.1289/ehp.6023.
- Bornehag, Carl-Gustaf, Efthymia Kitraki, Antonios Stamatakis, Emily Panagiotidou, Christina Rudén, Huan Shu, Christian Lindh, Joelle Ruegg, and Chris Gennings. 2019. "A Novel Approach to Chemical Mixture Risk Assessment—Linking Data from Population-Based Epidemiology and Experimental Animal Tests." *Risk Analysis* 39 (10):2259-2271. doi: 10.1111/risa.13323.
- Braun, Joseph M., Chris Gennings, Russ Hauser, and Thomas F. Webster. (2016). What Can Epidemiological Studies Tell Us about the Impact of Chemical Mixtures on Human Health? *Environmental Health Perspectives* 124 (1):A6-A9. doi: 10.1289/ehp.1510569.
- Bravo, Natalia, Joan O. Grimalt, Darja Mazej, Janja Snoj Tratnik, Dimosthenis Andreas Sarigiannis, and Milena Horvat. 2020. "Mother/child organophosphate and pyrethroid distributions." *Environment International* 134:105264. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105264>.
- Cadiou, S., M. Bustamante, L. Agier, S. Andrusaityte, X. Basagaña, A. Carracedo, L. Chatzi, R. Grazuleviciene, J. R. Gonzalez, K. B. Gutzkow, L. Maitre, D. Mason, F. Millot, M. Nieuwenhuijsen, E. Papadopoulou, G. Santorelli, P. J. Saulnier, M. Vives, J. Wright, M. Vrijheid, and R. Slama. 2020. "Using methylome data to inform exposome-health association studies: An application to the identification of environmental drivers of child body mass index." *Environment International* 138. doi: 10.1016/j.envint.2020.105622
- Calamandrei, G., L. Ricceri, E. Meccia, A. M. Tartaglione, M. Horvat, J. S. Tratnik, D. Mazej, Z. Špirić, I. Prpić, I. Vlašić-Cicvarić, D. Neubauer, J. Kodrič, S. Stropnik, B. Janasik, R. Kuraš, F. Mirabella, K. Polańska, and F. Chiarotti. 2020. "Pregnancy exposome and child psychomotor development in three European birth cohorts." *Environmental Research* 181. doi: 10.1016/j.envres.2019.108856.
- Castorina, R., A. Bradman, T. E. McKone, D. B. Barr, M. E. Harnly, and B. Eskenazi. (2003) Cumulative organophosphate pesticide exposure and risk assessment among pregnant women living in an agricultural community: A case study from the CHAMACOS cohort. *Environmental Health Perspectives* 111 (13):1640-1648. doi: 10.1289/ehp.5887.
- Chang, J. W., B. R. Yan, M. H. Chang, S. H. Tseng, Y. M. Kao, J. C. Chen, and C. C. Lee. (2014) Cumulative risk assessment for plasticizer-contaminated food using the hazard index approach. *Environmental Pollution* 189:77-84. doi: 10.1016/j.envpol.2014.02.005.
- Chen, W. C., and T. E. McKone (2001) Chronic health risks from aggregate exposures to ionizing radiation and chemicals: scientific basis for an assessment framework. *Risk Anal* 21 (1):25-42.
- Chou, W. C., C. Y. Hsu, C. C. Ho, J. H. Hsieh, H. C. Chiang, T. C. Tsou, Y. C. Chen, and P. Lin. 2017. "Development of an in Vitro-Based Risk Assessment Framework for Predicting Ambient Particulate Matter-Bound Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Activated Toxicity Pathways." *Environmental Science and Technology* 51 (24):14262-14272. doi: 10.1021/acs.est.7b02002.
- Christensen, Krista L. Yorita, and Paul White (2011) A Methodological Approach to Assessing the Health Impact of Environmental Chemical Mixtures: PCBs and Hypertension in the National

Health and Nutrition Examination Survey. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8 (11):4220-4237. doi: 10.3390/ijerph8114220.

Christiansen S., Scholze M, Dalgaard M., Vinggaard, A-M. *et al.* (2009) Synergistic Disruption of External Male Sex Organ Development by a Mixture of Four Antiandrogens. *EHP*. 117 (12)

Christiansen, S., A. Kortenkamp, M. Axelstad, J. Boberg, M. Scholze, P. R. Jacobsen, M. Faust, W. Lichtensteiger, M. Schlumpf, A. Burdorf, and U. Hass (2012) Mixtures of endocrine disrupting contaminants modelled on human high end exposures: an exploratory study in rats. *Int J Androl* 35 (3):303-16. doi: 10.1111/j.1365-2605.2011.01242.x.

Christiansen, S. Axelstad, M. Scholze, M. Johansson, A.K.L. Hass, U. Mandrup, K. Frandsen, H.L. Frederiksen, H. Krag Isling, L. Boberg, J. (2020). Grouping of endocrine disrupting chemicals for mixture risk assessment – Evidence from a rat study. *Environment International*. (142), 105870.

Chu & Chen (1984) Evaluation and estimation of potential carcinogenic risks of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH). U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/D-89/049 (NTIS PB89221329).

Chung, M. K., G. M. Buck Louis, K. Kannan, and C. J. Patel. 2019. "Exposome-wide association study of semen quality: Systematic discovery of endocrine disrupting chemical biomarkers in fertility require large sample sizes." *Environment International* 125:505-514. doi: 10.1016/j.envint.2018.11.037.

Crépet, A., F. Heraud, C. Bechaux, M. E. Gouze, S. Pierlot, A. Fastier, J. Ch Leblanc, L. Le Hegarat, N. Takakura, V. Fessard, J. Tressou, R. Maximilien, G. de Sousa, A. Nawaz, N. Zucchini-Pascal, R. Rahmani, M. Audebert, V. Graillot, and J. P. Cravedi. (2013a). 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* 313 (2-3):83-93. doi: 10.1016/j.tox.2013.04.005.

Crépet, A., J. Tressou, V. Graillot, C. Bechaux, S. Pierlot, F. Heraud, and J. Ch Leblanc. (2013b). Identification of the main pesticide residue mixtures to which the French population is exposed. *Environmental Research* 126:125-133. doi: 10.1016/j.envres.2013.03.008.

Crépet, A., M. Vanacker, C. Sprong, W. de Boer, U. Blaznik, M. Kennedy, C. Anagnostopoulos, D. L. Christodoulou, J. Ruprich, I. Rehurkova, J. L. Domingo, B. Hamborg Jensen, F. Metruccio, A. Moretto, L. Jacxsens, P. Spanoghe, D. Senaeve, H. van der Voet, and J. van Klaveren. 2019. "Selecting mixtures on the basis of dietary exposure and hazard data: application to pesticide exposure in the European population in relation to steatosis." *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 222 (2):291-306. doi: 10.1016/j.ijheh.2018.12.002.

Crépet, A., Paule Vasseur, Julien Jean, Pierre-Marie Badot, Fabrice Nessler, Jean-Paul Vernoux, Cyril Feidt, and Sakina Mhaouty-Kodja. 2022. "Integrating Selection and Risk Assessment of Chemical Mixtures: A Novel Approach Applied to a Breast Milk Survey." *Environmental Health Perspectives* 130 (3):035001. doi:10.1289/EHP8262.

Darde, T. A., O. Sallou, E. Becker, B. Evrard, C. Monjeaud, Y. Le Bras, B. Jegou, O. Collin, A. D. Rolland, and F. Chalmel (2015) The ReproGenomics Viewer: an integrative cross-species toolbox for the reproductive science community. *Nucleic Acids Res* 43 (W1):W109-16. doi: 10.1093/nar/gkv345.

Darde TA, Gaudriault P, Beranger R, Lancien C, Caillarec-Joly A, Sallou O, Bonvallot N, Chevrier C, Mazaud-Guittot S, Jégou B, Collin O, Becker E, Rolland AD, Chalmel F. (2018) TOXsIgN: a cross-species repository for toxicogenomic signatures. *Bioinformatics*; doi: 10.1093/bioinformatics/bty040.

Davis, A. P., C. J. Grondin, R. J. Johnson, D. Sciaky, B. L. King, R. McMorran, J. Wieggers, T. C. Wieggers, and C. J. Mattingly. (2017) The Comparative Toxicogenomics Database: update 2017. *Nucleic Acids Res* 45 (D1):D972-d978. doi: 10.1093/nar/gkw838.

DeBord, D. Gayle, Tania Carreón, Thomas J. Lentz, Paul J. Middendorf, Mark D. Hoover, and Paul A. Schulte (2016) Use of the "Exposome" in the Practice of Epidemiology: A Primer on -

Omic Technologies. *American Journal of Epidemiology* 184 (4):302-314. doi: 10.1093/aje/kwv325.

De Brouwere, K, C. Cornelis, A. Arvanitis, T. Brown, D. Crump, P. Harrison, M. Jantunen, P. Price, and R. Torfs (2014) Application of the maximum cumulative ratio (MCR) as a screening tool for the evaluation of mixtures in residential indoor air. *Science of the Total Environment* 479-480 (1):267-276. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.01.083.

De Zwart, D., and L. Posthuma (2013) Handling Fish Mixture Exposures in Risk Assessment. *Fish Physiology* 33:481-524. doi: 10.1016/B978-0-12-398254-4.00010-8.

Dewalque, L., C. Pirard, S. Vandepaer, and C. Charlier (2015) Temporal variability of urinary concentrations of phthalate metabolites, parabens and benzophenone-3 in a Belgian adult population. *Environmental Research* 142:414-423. doi: 10.1016/j.envres.2015.07.015.

Diamond, J., R. Altenburger, A. Coors, S. D. Dyer, M. Focazio, K. Kidd, A. A. Koelmans, K. M. Y. Leung, M. R. Servos, J. Snape, J. Tolls, and X. Zhang. 2018. "Use of prospective and retrospective risk assessment methods that simplify chemical mixtures associated with treated domestic wastewater discharges." *Environmental Toxicology and Chemistry* 37 (3):690-702. doi: 10.1002/etc.4013.

Donaire-Gonzalez, D., A. Curto, A. Valentín, S. Andrusaityte, X. Basagaña, M. Casas, L. Chatzi, J. de Bont, M. de Castro, A. Dedele, B. Granum, R. Grazuleviciene, M. Kampouri, S. Lyon-Caen, C. B. Manzano-Salgado, G. M. Aasvang, R. McEachan, C. H. Meinhard-Kjellstad, E. Michalaki, P. Pañella, I. Petraviciene, P. E. Schwarze, R. Slama, O. Robinson, I. Tamayo-Uria, M. Vafeiadi, D. Waiblinger, J. Wright, M. Vrijheid, and M. J. Nieuwenhuijsen. 2019. "Personal assessment of the external exposome during pregnancy and childhood in Europe." *Environmental Research* 174:95-104. doi: 10.1016/j.envres.2019.04.015.

Dong, T., Y. Zhang, S. Jia, H. Shang, W. Fang, D. Chen, and M. Fang. 2019. "Human Indoor Exposome of Chemicals in Dust and Risk Prioritization Using EPA's ToxCast Database." *Environmental Science and Technology* 53 (12):7045-7054. doi: 10.1021/acs.est.9b00280.

Duboudin C. (2010) Pollution à l'intérieur des logements : analyse descriptive (partie II). *Environnement, risques et santé*. 9 (1) : 27-38. doi : [10.1684/ers.2009.0318](https://doi.org/10.1684/ers.2009.0318)

Eadon, George, Laurence Kaminsky, Jay Silkworth, Kenneth Aldous, David Hilker, Patrick O'Keefe, Robert Smith, John Gierthy, John Hawley, Nancy Kim, and Anthony DeCaprio. (1986) Calculation of 2,3,7,8-TCDD equivalent concentrations of complex environmental contaminant mixtures. *Environmental Health Perspectives* 70:221-227.

EC (2020) Progress report on the assessment and management of combined exposures to multiple chemicals (chemical mixtures) and associated risks. Commission staff working document. Accompanying the document COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT, THE COUNCIL, THE EUROPEAN ECONOMIC AND SOCIAL COMMITTEE AND THE COMMITTEE OF THE REGIONS; Chemical strategy for Sustainability. Towards a Toxic-free Environment. COM (2020)667 final. [SWD mixtures.pdf \(europa.eu\)](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52020DC0667&from=do)

EFSA (2004a) Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to para hydroxybenzoates (E 214–219)." *EFSA Journal* 2 (9):83-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2004.83.

EFSA (2004b) Opinion of the Scientific Panel on contaminants in the food chain [CONTAM] to assess the health risks to consumers associated with exposure to organotins in foodstuffs. *EFSA Journal* 2 (10):102-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2004.102.

EFSA. (2008) Opinion of the Scientific Panel on Plant Protection products and their Residues to evaluate the suitability of existing methodologies and, if appropriate, the identification of new approaches to assess cumulative and synergistic risks from pesticides to human health with a view to set MRLs for those pesticides in the frame of Regulation (EC) 396/2005. *EFSA Journal* 704:1-84.

EFSA (2009) Scientific Opinion on Risk Assessment for a Selected Group of Pesticides from the Triazole Group to Test Possible Methodologies to Assess Cumulative Effects from Exposure through Food from these Pesticides on Human Health. *EFSA Journal* 7 (9):1167 (1-187).

EFSA (2012) Scientific Opinion on the presence of dioxins (PCDD/Fs) and dioxin-like PCBs (DL-PCBs) in commercially available foods for infants and young children. Efsa Panel on Contaminants in the Food. *EFSSA* 10 (12):2983-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2012.2983.

EFSA (2013a) Scientific Opinion on the identification of pesticides to be included in cumulative assessment groups on the basis of their toxicological profile. *EFSA Journal* 11 (7):3293.

EFSA (2013b) Scientific Opinion on the relevance of dissimilar mode of action and its appropriate application for cumulative risk assessment of pesticides residues in food. *EFSA Journal* 11 (12):3472-n/a. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3472.

EFSA (2019a) Guidance on harmonised methodologies for human health, animal health and ecological risk assessment of combined exposure to multiple chemicals. *EFSA Journal* 2019;17(3):5634. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5634

EFSA 2019b. Establishment of cumulative assessment groups of pesticides for their effects on the nervous system. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5800.

EFSA 2019c. Establishment of cumulative assessment groups of pesticides for their effects on the thyroid. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5801

Esposito, F., A. Nardone, E. Fasano, G. Scognamiglio, D. Esposito, D. Agrelli, L. Ottaiano, M. Fagnano, P. Adamo, E. Beccaloni, F. Vanni, and T. Cirillo. 2018. "A systematic risk characterization related to the dietary exposure of the population to potentially toxic elements through the ingestion of fruit and vegetables from a potentially contaminated area. A case study: The issue of the "Land of Fires" area in Campania region, Italy." *Environmental Pollution* 243:1781-1790. doi: 10.1016/j.envpol.2018.09.058.

Evans, A. M., G. E. Rice, J. M. Wright, and L. K. Teuschler (2014) Exploratory Cumulative Risk Assessment (CRA) Approaches Using Secondary Data. *Human and Ecological Risk Assessment* 20 (3):704-723. doi: 10.1080/10807039.2013.764771.

Evans, Richard M., Olwenn V. Martin, Michael Faust, and Andreas Kortenkamp (2016) Should the scope of human mixture risk assessment span legislative/regulatory silos for chemicals? *Science of The Total Environment* 543:757-764. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.162>.

Faisandier L, Bonnetterre V, De Gaudemaris R, Bicout DJ. Occupational exposome: a network-based approach for characterizing Occupational Health Problems. *J Biomed Inform.* 2011 Aug;44(4):545-52. doi: 10.1016/j.jbi.2011.02.010. Epub 2011 Mar 6. PMID: 21362498

Fournier, K., P. Glorennec, and N. Bonvallot (2014a) An exposure-based framework for grouping pollutants for a cumulative risk assessment approach: Case study of indoor semi-volatile organic compounds. *Environmental Research* 130:20-28. doi: 10.1016/j.envres.2014.01.007.

Fournier, K., P. Glorennec, and N. Bonvallot (2014b) Derivation of toxicological reference values for taking mixtures into account in health risk assessment: Existing methods and recent applications. *Environnement, Risques et Sante* 13 (3):203-221. doi: 10.1684/ers.2014.0696.

Fournier, K., C. Tebby, F. Zeman, P. Glorennec, D. Zmirou-Navier, and N. Bonvallot. (2016) Multiple exposures to indoor contaminants: Derivation of benchmark doses and relative potency factors based on male reprotoxic effects. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 74:23-30. doi: 10.1016/j.yrtph.2015.11.017.

Fox, M. A., N. L. Tran, J. D. Groopman, and T. A. Burke (2004) Toxicological resources for cumulative risk: an example with hazardous air pollutants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 40 (3):305-311. doi: 10.1016/j.yrtph.2004.07.008.

Fox, M. A., L. E. Brewer, and L. Martin (2017) An Overview of Literature Topics Related to Current Concepts, Methods, Tools, and Applications for Cumulative Risk Assessment (2007-2016). *Int J Environ Res Public Health* 14 (4). doi: 10.3390/ijerph14040389.

- Gao, Chong-Jing, Li-Yan Liu, Wan-Li Ma, Nan-Qi Ren, Ying Guo, Ning-Zheng Zhu, Ling Jiang, Yi-Fan Li, and Kurunthachalam Kannan. (2016) Phthalate metabolites in urine of Chinese young adults: Concentration, profile, exposure and cumulative risk assessment. *Science of The Total Environment* 543, Part A:19-27. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.005>.
- Gallagher, Sarah S., Glenn E. Rice, Louis J. Scarano, Linda K. Teuschler, George Bollweg, and Lawrence Martin (2015) Cumulative risk assessment lessons learned: A review of case studies and issue papers. *Chemosphere* 120:697-705. doi: [10.1016/j.chemosphere.2014.10.030](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.030).
- Garí, Mercè, Yolanda González-Quinteiro, Natalia Bravo, and Joan O. Grimalt. 2018. "Analysis of metabolites of organophosphate and pyrethroid pesticides in human urine from urban and agricultural populations (Catalonia and Galicia)." *Science of The Total Environment* 622-623:526-533. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.355>.
- Gascon, Mireia, Martine Vrijheid, Mercè Garí, Marta Fort, Joan O. Grimalt, David Martinez, Maties Torrent, Mònica Guxens, and Jordi Sunyer. 2015. "Temporal trends in concentrations and total serum burdens of organochlorine compounds from birth until adolescence and the role of breastfeeding." *Environment International* 74:144-151. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.010>.
- Getzinger, G. J., and P. L. Ferguson. 2020. "Illuminating the exposome with high-resolution accurate-mass mass spectrometry and nontargeted analysis." *Current Opinion in Environmental Science and Health* 15:49-56. doi: [10.1016/j.coesh.2020.05.005](https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.05.005).
- Gittner, L. S., B. J. Kilbourne, R. Vadapalli, H. M. K. Khan, and M. A. Langston (2017) A multifactorial obesity model developed from nationwide public health exposome data and modern computational analyses. *Obesity Research and Clinical Practice* 11 (5):522-533. doi: [10.1016/j.orcp.2017.05.001](https://doi.org/10.1016/j.orcp.2017.05.001).
- Go, Y., Walker D., Liang Y., Uppal K., Soltow Q., Tran V., Strobel F., Quyyumi A., Ziegler T., Pennell K., Miller G., and Jones D. (2015) Reference Standardization for Mass Spectrometry and High-resolution Metabolomics Applications to Exposome Research. *Toxicological Sciences* 148 (2):531-543. doi: [10.1093/toxsci/kfv198](https://doi.org/10.1093/toxsci/kfv198).
- Golding, J., S. Gregory, K. Northstone, Y. Iles-Caven, G. Ellis, and M. Pembrey. 2019. "Investigating possible trans/intergenerational associations with obesity in young adults using an exposome approach." *Frontiers in Genetics* 10 (APR). doi: [10.3389/fgene.2019.00314](https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00314).
- Gustavsson, M., J. Kreuger, M. Bundschuh, and T. Backhaus. 2017. "Pesticide mixtures in the Swedish streams: Environmental risks, contributions of individual compounds and consequences of single-substance oriented risk mitigation." *Sci Total Environ* 598:973-983. doi: [10.1016/j.scitotenv.2017.04.122](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.122).
- Haddad, S., R. Tardif, C. Viau, and K. Krishnan (1999) A modeling approach to account for toxicokinetic interactions in the calculation of biological hazard index for chemical mixtures. *Toxicology Letters* 108 (2-3):303-308. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4274\(99\)00102-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00102-2).
- Haddad, N., X. D. Andrianou, and K. C. Makris. 2019. "A Scoping Review on the Characteristics of Human Exposome Studies." *Current Pollution Reports* 5 (4):378-393. doi: [10.1007/s40726-019-00130-7](https://doi.org/10.1007/s40726-019-00130-7).
- Han, X., and P. S. Price (2011) Determining the maximum cumulative ratios for mixtures observed in ground water wells used as drinking water supplies in the United States. *Int J Environ Res Public Health* 8 (12):4729-45. doi: [10.3390/ijerph8124729](https://doi.org/10.3390/ijerph8124729).
- Hass, U., S. Christiansen, M. Axelstad, M. Scholze, and J. Boberg. 2017. "Combined exposure to low doses of pesticides causes decreased birth weights in rats." *Reproductive Toxicology* 72:97-105. doi: [10.1016/j.reprotox.2017.05.004](https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.05.004).
- Haug, L. S., A. K. Sakhi, E. Cequier, M. Casas, L. Maitre, X. Basagana, S. Andrusaityte, G. Chalkiadaki, L. Chatzi, M. Coen, J. de Bont, A. Dedele, J. Ferrand, R. Grazuleviciene, J. R. Gonzalez, K. B. Gutzkow, H. Keun, R. McEachan, H. M. Meltzer, I. Petraviciene, O. Robinson, P. J. Saulnier, R. Slama, J. Sunyer, J. Urquiza, M. Vafeiadi, J. Wright, M. Vrijheid, and C.

- Thomsen. 2018. "In-utero and childhood chemical exposome in six European mother-child cohorts." *Environment International* 121:751-763. doi: 10.1016/j.envint.2018.09.056.
- Haws L., Su S., Harris M., DeVito M., Walker N., Farland W., Finley B., Birnbaum L. (2006). Development of a Refined Database of Mammalian Relative Potency Estimates for Dioxin-like Compounds. *Toxicological Sciences* 89 (1):4-30. doi: 10.1093/toxsci/kfi294.
- Health Council of the Netherlands (2002) Exposure to combinations of substances: a system for assessing health risks. The Hague.
- HEI (2015) New Statistical Methods for Analyzing Multiple Pollutants, Sources, and Health Outcomes. In S T A T E M E N T, Synopsis of Research Report 183, Parts 1 & 2. Boston: Health Effects Institute.
- HEI (2016) Development of Statistical Methods for Multipollutant Research. Modeling of Multipollutant Profiles and Spatially Varying Health Effects with Applications to Indicators of Adverse Birth Outcomes, Research Report 183, Parts 3. Boston: Health Effects Institute.
- Hernandez, A. F., and A. M. Tsatsakis (2017) Human exposure to chemical mixtures: Challenges for the integration of toxicology with epidemiology data in risk assessment. *Food Chem Toxicol* 103:188-193. doi: 10.1016/j.fct.2017.03.012.
- Hornung, R. W., Deddens, J. A., & Roscoe, R. J. (1998). Modifiers of lung cancer risk in uranium miners from the Colorado Plateau. *Health Physics*, 74, 12–21.
- Howard, G.J., and T.F. Webster (2013) Contrasting Theories of Interaction in Epidemiology and Toxicology. *Environ Health Perspect* 121 (1):1-6. doi: DOI:10.1289/ehp.1205889.
- Hu, H., J. Zhao, D. A. Savitz, M. Prosperi, Y. Zheng, and T. A. Pearson. 2020. "An external exposome-wide association study of hypertensive disorders of pregnancy." *Environment International* 141. doi: 10.1016/j.envint.2020.105797.
- IGHRC (2009) Chemical Mixtures: A framework for assessing risks to human health (cr14). UK: Institute of Environment and Health, Cranfield University. The Interdepartmental Group on Health Risks from Chemicals.
- ILSI (1999) A Framework for Estimating Pesticide Concentrations in Drinking Water for Aggregate Exposure Assessments. International Life Sciences Institute, Risk Science Institute Working Group, ILSI Research Foundation.
- INERIS (2006) Evaluation des risques sanitaires liés aux mélanges de nature chimique. Perspectives dans le cadre des études d'impact sanitaire des dossiers de demande d'autorisation d'exploiter des installations classées. Rapport d'étude n°DRC-06-45960/27-ERSA/CMa-LDe.
- IPCS/WHO (2009) Assessment of combined exposures to multiple chemicals: report of a WHO/IPCS international workshop on aggregate/cumulative risk assessment. . Geneva: World Health Organization/International Programme on Chemical Safety.
- IRSST (2005) Impact des interactions toxicologiques sur la gestion des situations d'exposition à des contaminants multiples. Adolf Vyskocil, Claude Viau, Robert Tardif, Denis Bégin, Michel Gérin, France Gagnon, Daniel Drolet, François Lemay, Ginette Truchon, Marc Baril, Gilles Lapointe, Normand Gagnon. Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail. Etude et recherche. Rapport R-425. 59 pages.
- Jensen B., Petersen A. , Christiansen S., Boberg J., Axelstad M., Herrmann S, Poulsen M., Hass U. (2013) Probabilistic assessment of the cumulative dietary exposure of the population of Denmark to endocrine disrupting pesticides. *Food and Chemical Toxicology* 55:113-120. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.002.
- Jensen B., Petersen A. , Nielsen E., Christensen T., Poulsen M., and Andersen J. (2015) Cumulative dietary exposure of the population of Denmark to pesticides. *Food and Chemical Toxicology* 83:300-307. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2015.07.002.
- Jia, S., T. Xu, T. Huan, M. Chong, M. Liu, W. Fang, and M. Fang. 2019. "Chemical Isotope Labeling Exposome (CIL-EXPOSOME): One High-Throughput Platform for Human Urinary

Global Exposome Characterization." *Environmental Science and Technology* 53 (9):5445-5453. doi: 10.1021/acs.est.9b00285.

Jiang, C., X. Wang, X. Li, J. Inlora, T. Wang, Q. Liu, and M. Snyder. 2018. "Dynamic Human Environmental Exposome Revealed by Longitudinal Personal Monitoring." *Cell* 175 (1):277-291.e31. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.060.

Johnson, C. H., T. J. Athersuch, G. W. Collman, S. Dhungana, D. F. Grant, D. P. Jones, C. J. Patel, and V. Vasiliou (2017) Yale school of public health symposium on lifetime exposures and human health: the exposome; summary and future reflections. *Hum Genomics* 11 (1):32. doi: 10.1186/s40246-017-0128-0.

Jones D. P. (2016) Sequencing the exposome: A call to action. *Toxicol Rep* 3:29-45. doi: 10.1016/j.toxrep.2015.11.009.

Jonker, D., A. P. Freidig, J. P. Groten, A. E. de Hollander, R. H. Stierum, R. A. Woutersen, and V. J. Feron (2004) Safety evaluation of chemical mixtures and combinations of chemical and non-chemical stressors. *Rev Environ Health* 19 (2):83-139.

Juarez, P. D., P. Matthews-Juarez, D. B. Hood, W. Im, R. S. Levine, B. J. Kilbourne, M. A. Langston, M. Z. Al-Hamdan, W. L. Crosson, M. G. Estes, S. M. Estes, V. K. Agboto, P. Robinson, S. Wilson, and M. Y. Lichtveld (2014) The public health exposome: a population-based, exposure science approach to health disparities research. *Int J Environ Res Public Health* 11 (12):12866-95. doi: 10.3390/ijerph111212866.

Juarez, P. D., and P. Matthews-Juarez. 2018. "Applying an exposome-wide (ExWAS) approach to cancer research." *Frontiers in Oncology* 8 (AUG). doi: 10.3389/fonc.2018.00313.

Juarez, P. D., D. B. Hood, M. A. Song, and A. Ramesh. 2020. "Use of an Exposome Approach to Understand the Effects of Exposures From the Natural, Built, and Social Environments on Cardio-Vascular Disease Onset, Progression, and Outcomes." *Frontiers in Public Health* 8. doi: 10.3389/fpubh.2020.00379.

Kalantari F., Bergkvist C., Berglund M., Fattore E., Glynn A., Håkansson H., and Sand S. (2013) Establishment of the cumulative margin of exposure for a group of polychlorinated biphenyl (PCB) congeners using an improved approach that accounts for both variability and uncertainty. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 65 (3):325-333. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.01.005>.

Kalia, V., D. I. Walker, K. M. Krasnodemski, D. P. Jones, G. W. Miller, and M. A. Kioumourtzoglou. 2020. "Unsupervised dimensionality reduction for exposome research." *Current Opinion in Environmental Science and Health* 15:32-38. doi: 10.1016/j.coesh.2020.05.001.

Kapraun, D.F., J.F. Wambaugh, C. L. Ring, R. Tornero-Velez, and R. Woodrow Setzer (2017) A Method for Identifying Prevalent Chemical Combinations in the U.S. Population. *Environ Health Perspect* 125 (8):087017-1 - 087017-16 doi: DOI:10.1289/EHP1265.

KEMI (2015) An additional assessment factor (MAF) – A suitable approach for improving the regulatory risk assessment of chemical mixtures? Report 5/15 by T. Backhaus to the Swedish Chemicals Agency, <https://www.kemi.se/global/rapporter/2015/rapport-5-15.pdf>

KEMI (2020) Improving the regulatory assessment of combination effects: steps towards implementing the mixture assessment factor (MAF) in chemical regulation Report 8/21 by T. Backhaus to the Swedish Chemicals Agency, <https://www.kemi.se/download/18.663e01517a129aa97f5cd/1624266627992/PM%208-21-Improving-the%20regulatory-assessment-of-combination-effects-steps-towards-implementing-the-mixture-assessment-factor-MAF-in-chemical-regulation.pdf>

Kennedy, M. C., D. G. Garthwaite, W. J. de Boer, and J. W. Kruisselbrink. 2019. "Modelling aggregate exposure to pesticides from dietary and crop spray sources in UK residents." *Environmental Science and Pollution Research* 26 (10):9892-9907. doi: 10.1007/s11356-019-04440-7.

- Kennedy, M.C. Hart, ADM. Kruisselbrink, J.W. van Lenthe, M. Boer, W.J. van der Voet, H. Rorije, E. Sprong, C. van Klaveren, J. (2020). A retain and refine approach to cumulative risk assessment. *Food Chem Toxicol* 2020; 138:111223.
- Kim, K. N., and Y. C. Hong (2017) The exposome and the future of epidemiology: a vision and prospect. *Environ Health Toxicol* 32:e2017009. doi: 10.5620/eht.e2017009.
- Kiosoglou, P., A. Borda, K. Gray, F. Martin-Sanchez, K. Verspoor, and G. Lopez-Campos (2017) Characterising the scope of exposome research: A generalisable approach. edited by Z. Dongsheng, A. V. Gundlapalli and J. Marie-Christine: IOS Press.
- Koch, H. M., M. Wittassek, T. Brüning, J. Angerer, and U. Heudorf (2011) Exposure to phthalates in 5-6 years old primary school starters in Germany-A human biomonitoring study and a cumulative risk assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 214 (3):188-195. doi: 10.1016/j.ijheh.2011.01.009.
- Kongsbak, K., A. M. Vinggaard, N. Hadrup, and K. Audouze.(2014) A computational approach to mechanistic and predictive toxicology of pesticides. *Altex* 31 (1):11-22. doi: 10.14573/altex.1304241.
- Kortenkamp, A., T. Backhaus, and M. Faust (2009) State of the art report on mixture toxicity. European Commission.
- Kortenkamp, A., and M. Faust (2010) Combined exposures to anti-androgenic chemicals: steps towards cumulative risk assessment. *Int J Androl* 33 (2):463-74. doi: 10.1111/j.1365-2605.2009.01047.x.
- Kortenkamp, A., M. Faust, T. Backhaus, R. Altenburger, M. Scholze, C. Müller, S. Ermler, L. Posthuma, and W. Brack. 2019. "Mixture risks threaten water quality: the European Collaborative Project SOLUTIONS recommends changes to the WFD and better coordination across all pieces of European chemicals legislation to improve protection from exposure of the aquatic environment to multiple pollutants." *Environmental Sciences Europe* 31 (1). doi: 10.1186/s12302-019-0245-6.
- Kortenkamp, A. 2020. "Which chemicals should be grouped together for mixture risk assessments of male reproductive disorders?" *Molecular and Cellular Endocrinology* 499. doi: 10.1016/j.mce.2019.11058110.1093/toxsci/kfy069
- Kortenkamp, Andreas, and Holger M. Koch. 2020. "Refined reference doses and new procedures for phthalate mixture risk assessment focused on male developmental toxicity." *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 224:113428. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.113428>.
- Kranich, S. K., H. Frederiksen, A. M. Andersson, and N. Jørgensen (2014) Estimated daily intake and hazard quotients and indices of phthalate diesters for young Danish men. *Environmental Science and Technology* 48 (1):706-712. doi: 10.1021/es402569k.
- Lemieux C., Lambert A., Lundstedt S., Tysklind M. , White P. (2008) Mutagenic hazards of complex polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in contaminated soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (4):978-990. doi: 10.1897/07-157.1.
- Levy, J. (2008) Is Epidemiology the Key to Cumulative Risk Assessment ? *Risk Analysis* 28 (6):1507-1513. doi: 10.1111/j.1539-6924.2008.01121.x.
- Li, Z., J. Nie, Z. Lu, H. Xie, L. Kang, Q. Chen, A. Li, X. Zhao, G. Xu, and Z. Yan. 2016. "Cumulative risk assessment of the exposure to pyrethroids through fruits consumption in China – Based on a 3-year investigation." *Food and Chemical Toxicology* 96:234-243. doi: 10.1016/j.fct.2016.08.012.
- Lipscomb, J. C., J. C. Lambert, and L. K. Teuschler (2010) Chemical Mixtures and Cumulative Risk Assessment." In Principles and Practice of Mixtures. *Toxicology*, 253-281. Wiley-VCH.
- MacDonell, M. M., R. C. Hertzberg, G. E. Rice, J. M. Wright, and L. K. Teuschler. 2018. "Characterizing Risk for Cumulative Risk Assessments." *Risk Analysis* 38 (6):1183-1201. doi: 10.1111/risa.12933.

- Marshall, S., C. Gennings, L. K. Teuschler, L. G. Stork, R. Tornero-Velez, K. M. Crofton, and G. E. Rice (2013) An empirical approach to sufficient similarity: Combining exposure data and mixtures toxicology data. *Risk Analysis* 33 (9):1582-1595. doi: 10.1111/risa.12015.
- Maitre, L., J. De Bont, M. Casas, O. Robinson, G. M. Aasvang, L. Agier, S. Andrušaitytė, F. Ballester, X. Basagaña, E. Borràs, C. Brochot, M. Bustamante, A. Carracedo, M. De Castro, A. Dedele, D. Donaire-Gonzalez, X. Estivill, J. Evandt, S. Fossati, L. Giorgis-Allemand, J. R. Gonzalez, B. Granum, R. Grazuleviciene, K. B. Gützkow, L. S. Haug, C. Hernandez-Ferrer, B. Heude, J. Ibarluzea, J. Julvez, M. Karachaliou, H. C. Keun, N. H. Krog, C. H. E. Lau, V. Leventakou, S. Lyon-Caen, C. Manzano, D. Mason, R. McEachan, H. M. Meltzer, I. Petraviciene, J. Quentin, T. Roumeliotaki, E. Sabido, P. J. Saulnier, A. P. Siskos, V. Siroux, J. Sunyer, I. Tamayo, J. Urquiza, M. Vafeiadi, D. Van Gent, M. Vives-Usano, D. Waiblinger, C. Warembourg, L. Chatzi, M. Coen, P. Van Den Hazel, M. J. Nieuwenhuijsen, R. Slama, C. Thomsen, J. Wright, and M. Vrijheid. 2018. "Human Early Life Exposome (HELIX) study: A European population-based exposome cohort." *BMJ Open* 8 (9). doi: 10.1136/bmjopen-2017-021311.
- Maitre, L., O. Robinson, D. Martinez, M. B. Toledano, J. Ibarluzea, L. S. Marina, J. Sunyer, C. M. Villanueva, H. C. Keun, M. Vrijheid, and M. Coen. 2018. "Urine Metabolic Signatures of Multiple Environmental Pollutants in Pregnant Women: An Exposome Approach." *Environmental Science and Technology* 52 (22):13469-13480. doi: 10.1021/acs.est.8b02215.
- Martin, M. T., R. J. Brennan, W. Hu, E. Ayanoglu, C. Lau, H. Ren, C. R. Wood, J. C. Corton, R. J. Kavlock, and D. J. Dix (2007) Toxicogenomic study of triazole fungicides and perfluoroalkyl acids in rat livers predicts toxicity and categorizes chemicals based on mechanisms of toxicity. *Toxicol Sci* 97 (2):595-613. doi: 10.1093/toxsci/kfm065.
- Martin, O.V., Scholze, M., Kortenkamp, A. (2013), 'Dispelling urban myths about default uncertainty factors in chemical risk assessment – sufficient protection against mixture effects?', *Environmental Health*
- Martin, O. V., R. M. Evans, M. Faust, and A. Kortenkamp (2017) A Human Mixture Risk Assessment for Neurodevelopmental Toxicity Associated with Polybrominated Diphenyl Ethers Used as Flame Retardants. *Environ Health Perspect* 125 (8):087016. doi: 10.1289/ehp826.
- Martin-Sanchez, F., R. Bellazzi, V. Casella, W. Dixon, G. Lopez-Campos, and N. Peek. 2020. "Progress in Characterizing the Human Exposome: a Key Step for Precision Medicine." *Yearbook of medical informatics* 29 (1):115-120. doi: 10.1055/s-0040-1701975.
- Meek M. E., A. R. Boobis, K. M. Crofton, G. Heinemeyer, M. V. Raaij, and C. Vickers. (2011). Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: A WHO/IPCS framework. *Regul Toxicol Pharmacol*. doi: 10.1016/j.yrtph.2011.03.010.
- Metz, T. O., E. S. Baker, E. L. Schymanski, R. S. Renslow, D. G. Thomas, T. J. Causon, I. K. Webb, S. Hann, R. D. Smith, and J. G. Teeguarden (2017) Integrating ion mobility spectrometry into mass spectrometry-based exposome measurements: what can it add and how far can it go? *Bioanalysis* 9 (1):81-98. doi: 10.4155/bio-2016-0244.
- Miller, Gary W., and Dean P. Jones (2014) The Nature of Nurture: Refining the Definition of the Exposome. *Toxicological Sciences* 137 (1):1-2. doi: 10.1093/toxsci/kft251.
- Minigalieva, I. A., B. A. Katsnelson, V. G. Panov, A. N. Varaksin, V. B. Gurchich, L. I. Privalova, M. P. Sutunkova, and S. V. Klinova. 2017. "Experimental study and mathematical modeling of toxic metals combined action as a scientific foundation for occupational and environmental health risk assessment. A summary of results obtained by the Ekaterinburg research team (Russia)." *Toxicology Reports* 4:194-201. doi: 10.1016/j.toxrep.2017.04.002.
- Mishra N., Ayoko G., Salthammer T., Morawska L. (2015) Evaluating the risk of mixtures in the indoor air of primary school classrooms. *Environmental Science and Pollution Research* 22 (19):15080-15088. doi: 10.1007/s11356-015-4619-z.

- Moehner M., Kersten N., and Gellissen J. (2013) Diesel motor exhaust and lung cancer mortality: reanalysis of a cohort study in potash miners. *European Journal of Epidemiology* 28 (2):159-168. doi: 10.1007/s10654-013-9784-0.
- Mumtaz, M. M., and P. R. Durkin (1992) A weight-of-evidence approach for assessing interactions in chemical mixture." *Toxicol Ind Health* 8: 377-406. (PMID:7570620).
- Mumtaz, M. M., C.T. De Rosa, J. Groten, V. J. Feron, H. Hansen, and R. R. Durkin (1998) Estimation of Toxicity of Chemical Mixtures through Modeling of Chemical Interactions. *Environ Health Perspect* 106: 1353-1360.
- Neveu, V., G. Nicolas, R. M. Salek, D. S. Wishart, and A. Scalbert. 2020. "Exposome-Explorer 2.0: An update incorporating candidate dietary biomarkers and dietary associations with cancer risk." *Nucleic Acids Research* 48 (D1):D908-D912. doi: 10.1093/nar/gkz1009.
- Nieuwenhuijsen, M. J., L. Agier, X. Basagaña, J. Urquiza, I. Tamayo-Uria, L. Giorgis-Allemand, O. Robinson, V. Siroux, L. Maitre, M. de Castro, A. Valentin, D. Donaïre, P. Dadvand, G. M. Aasvang, N. H. Krog, P. E. Schwarze, L. Chatzi, R. Grazuleviciene, S. Andrusaityte, A. Dedele, R. McEachan, J. Wright, J. West, J. Ibarluzea, F. Ballester, M. Vrijheid, and R. Slama. 2019. "Influence of the urban exposome on birth weight." *Environmental Health Perspectives* 127 (4). doi: 10.1289/EHP3971.
- Nisbet, I. C., and P. K. LaGoy. 1992. "Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)." *Regul Toxicol Pharmacol* 16 (3):290-300.
- NRC (2008). Phthalates and Cumulative Risk Assessment: The Tasks Ahead. National Research Council Committee on the Health Risks of, Phthalates Washington (DC): National Academies Press (US)
- Ogbeide, O., I. Tongo, A. Enuneku, E. Ogbomida, and L. Ezemonye. 2016. "Human Health Risk Associated with Dietary and Non-Dietary Intake of Organochlorine Pesticide Residues from Rice Fields in Edo State Nigeria." *Exposure and Health* 8 (1):53-66. doi: 10.1007/s12403-015-0182-6
- Olsson A., Fevotte J., Fletcher T., Cassidy A., Mannelje A., Zaridze D., Szeszenia-Dabrowska N, Rudnai P., Lissowska J., Fabianova E., Mates D., Bencko V., Foretova L., Janout V., Brennan P., and Boffetta P (2010) Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and lung cancer risk: a multicenter study in Europe. *Occupational and Environmental Medicine* 67 (2):98-103. doi: 10.1136/oem.2009.046680.
- Omrane, F., I. Gargouri, M. Khadhraoui, B. Elleuch, and D. Zmirou-Navier. 2018. "Risk assessment of occupational exposure to heavy metal mixtures: A study protocol." *BMC Public Health* 18 (1). doi: 10.1186/s12889-018-5191-5
- OMS (2017) Drinking Water Parameter Cooperation Project. Support to the revision of Annex I Council Directive 98/83/EC on the Quality of Water Intended for Human Consumption (Drinking Water Directive) Recommendations. World Health Organization. Regional office for Europe. Bonn. September 2017. 240 pages.
- Orton F, Ermler S, Kugathas S, Rosivatz E, Scholze M, and Kortenkamp A.(2014) Mixture effects at very low doses with combinations of anti-androgenic pesticides, antioxidants, industrial pollutant and chemicals used in personal care products. *Toxicology and Applied Pharmacology* 278 (3):201-208. doi: 10.1016/j.taap.2013.09.008.
- OSHA. 1971. Occupational safety and health act. Standards: Permissible exposure limits for air contaminants. Occupational Safety and Health Administration.
- Pan, G., T. Hanaoka, L. Yu, J. Na, Y. Yamano, K. Hara, M. Ichiba, T. Nakadate, R. Kishi, P. Wang, H. Yin, S. Zhang, and Y. Feng (2011) Associations between hazard indices of di-n-butylphthalate and di-2-ethylhexylphthalate exposure and serum reproductive hormone levels among occupationally exposed and unexposed Chinese men. *Int J Androl* 34 (5 Pt 2):e397-406. doi: 10.1111/j.1365-2605.2011.01201.x.

- Patel, C. J., and A. K. Manrai (2015) Development of exposome correlation globes to map out environment-wide associations. *Pac Symp Biocomput*:231-42.
- Patel, C. J. 2017. "Analytic Complexity and Challenges in Identifying Mixtures of Exposures Associated with Phenotypes in the Exposome Era." *Curr Epidemiol Rep* 4 (1):22-30. doi: 10.1007/s40471-017-0100-5.
- Payne-Sturges D., Cohen J., Castorina R., Axelrad D., and Woodruff T. (2009) Evaluating Cumulative Organophosphorus Pesticide Body Burden of Children: A National Case Study. *Environmental Science & Technology* 43 (20):7924-7930. doi: 10.1021/es900713s.
- Pelletier, M., N. Bonvallot, and P. Glorennec (2017) Aggregating exposures & cumulating risk for semivolatile organic compounds: A review. *Environ Res* 158:649-659. doi: 10.1016/j.envres.2017.06.022.
- Pelletier, M., P. Glorennec, C. Mandin, B. Le Bot, O. Ramalho, F. Mercier, and N. Bonvallot. 2018. "Chemical-by-chemical and cumulative risk assessment of residential indoor exposure to semivolatile organic compounds in France." *Environment International* 117:22-32. doi: 10.1016/j.envint.2018.04.024.
- Pène, P., and Y. Lévi (2011) Les eaux de consommation humaine et la santé publique en France métropolitaine. Paris (France): Académie Nationale de Médecine, Rapport au nom de la Commission XIV (Santé et Environnement).
- Peters, A., G. Hoek, and K. Katsouyanni (2012) Understanding the link between environmental exposures and health: Does the exposome promise too much? *Journal of Epidemiology and Community Health* 66 (2):103-105. doi: 10.1136/jech-2011-200643.
- Pierson, T. K., R. G. Hetes, and D. F. Naugle (1991) Risk characterization framework for noncancer end points. *Environmental health perspectives* 95:121-9. doi: 10.2307/3431118.
- Pino, A., F. Chiarotti, G. Calamandrei, A. Gotti, S. Karakitsios, E. Handakas, B. Bocca, D. Sarigiannis, and A. Alimonti. (2017) Human biomonitoring data analysis for metals in an Italian adolescents cohort: An exposome approach. *Environmental Research* 159:344-354. doi: 10.1016/j.envres.2017.08.012.
- Price, Paul S., and Xianglu Han (2011) Maximum Cumulative Ratio (MCR) as a Tool for Assessing the Value of Performing a Cumulative Risk Assessment. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8 (6):2212-2225. doi: 10.3390/ijerph8062212.
- Pose-Juan, E., T. Fernandez-Cruz, and J. Simal-Gandara. 2016. "State of the art on public risk assessment of combined human exposure to multiple chemical contaminants." *Trends in Food Science & Technology* 55:11-28. doi: 10.1016/j.tifs.2016.06.011.
- Pries, L. K., A. Lage-Castellanos, P. Delespaul, G. Kenis, J. J. Luykx, B. D. Lin, A. L. Richards, B. Akdede, T. Binbay, V. Altinyazar, B. Yalinçetin, G. Gümüş-Akay, B. Cihan, H. Soygür, H. Ulaş, E. Cankurtaran, S. U. Kaymak, M. M. Mihaljevic, S. A. Petrovic, T. Mirjanic, M. Bernardo, B. Cabrera, J. Bobes, P. A. Saiz, M. P. García-Portilla, J. Sanjuan, E. J. Aguilar, J. L. Santos, E. Jiménez-López, M. Arrojo, A. Carracedo, G. López, J. González-Peñas, M. Parellada, N. P. Maric, C. Atbaşoğlu, A. Uçok, K. Alptekin, M. C. Saka, B. Z. Alizadeh, T. Van Amelsvoort, R. Bruggeman, W. Cahn, L. De Haan, J. J. Luykx, R. Van Winkel, B. P. F. Rutten, J. Van Os, C. Arango, M. O'Donovan, B. P. F. Rutten, J. Van Os, and S. Guloksuz. 2019. "Estimating Exposome Score for Schizophrenia Using Predictive Modeling Approach in Two Independent Samples: The Results from the EUGEI Study." *Schizophrenia Bulletin* 45 (5):960-965. doi: 10.1093/schbul/sbz054.
- Reffstrup, T. K., J. C. Larsen, and O. Meyer (2010) Risk assessment of mixtures of pesticides. Current approaches and future strategies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 56 (2):174-192. doi: 10.1016/j.yrtph.2009.09.013.
- Reyes, J. M., and P. S. Price. 2018. "An analysis of cumulative risks based on biomonitoring data for six phthalates using the Maximum Cumulative Ratio." *Environment International* 112:77-84. doi: 10.1016/j.envint.2017.12.008.

- Rice G., MacDonell M., Hertzberg R., Teuschler L., Picel K., Butler J., Chang Y-S., and Hartmann H. (2008) An approach for assessing human exposures to chemical mixtures in the environment. *Toxicology and Applied Pharmacology* 233 (1):126-136. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2008.05.004>.
- Rider C. and LeBlanc G. (2005) An Integrated Addition and Interaction Model for Assessing Toxicity of Chemical Mixtures. *Toxicol Sci* 87: 520-528. doi:10.1093/toxsci/kfi247.
- Rider C., Furr J., Wilson V., and L. Earl Gray Jr. (2010) Cumulative Effects of In Utero Administration of Mixtures of Reproductive Toxicants that Disrupt Common Target Tissues via Diverse Mechanisms of Toxicity. 33: 443-462. doi:10.1111/j.1365-2605.2009.01049.x.
- RIVM (2001) Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels. RIVM report 711701 025. National Institute for Public Health and the Environment. A.J. Baars, R.M.C Theelen, et al.,
- RIVM (2009) Re-evaluation of some humantoxicological Maximum Permissible Risk levels earlier evaluated in the period 1991-2001 Report 711701092/2009. B. Tiesjema | A.J. Baars
- RIVM (2016) Addressing combined effects of chemicals in environmental safety assessment under REACH - A thought starter. RIVM Letter report 2016-0162 F.A. van Broekhuizen | L. Posthuma | T.P. Traas
- Robinson, O., X. Basagaña, L. Agier, M. De Castro, C. Hernandez-Ferrer, J. R. Gonzalez, J. O. Grimalt, M. Nieuwenhuijsen, J. Sunyer, R. Slama, and M. Vrijheid (2015) The Pregnancy Exposome: Multiple Environmental Exposures in the INMA-Sabadell Birth Cohort. *Environmental Science and Technology* 49 (17):10632-10641. doi: 10.1021/acs.est.5b01782.
- Roden, N. M., E. V. Sargent, G. T. DiFerdinando Jr, J. Y. Hong, and M. G. Robson (2014) The Cumulative Risk to Human Health of Pharmaceuticals in New Jersey Surface Water. *Human and Ecological Risk Assessment*. doi: 10.1080/10807039.2014.913439.
- Rotter, S., A. Beronius, A. R. Boobis, A. Hanberg, J. van Klaveren, M. Luijten, K. Machera, D. Nikolopoulou, H. van der Voet, J. Zilliacus, and R. Solecki. 2018. "Overview on legislation and scientific approaches for risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: the potential EuroMix contribution." *Crit Rev Toxicol* 48 (9):796-814. doi: 10.1080/10408444.2018.1541964.
- Safe S. (1984) Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): biochemistry, toxicology, and mechanism of action. *Crit Rev Toxicol* 13 (4):319-95. doi: 10.3109/10408448409023762.
- Safe S., S. Bandiera, T. Sawyer, L. Robertson, L. Safe, A. Parkinson, P. E. Thomas, D. E. Ryan, L. M. Reik, W. Levin, and *et al.* (1985) PCBs: structure-function relationships and mechanism of action. *Environ Health Perspect* 60:47-56.
- Santé Canada (1987). Directives d'exposition concernant la qualité de l'air des résidences. Ottawa (Ontario): Rapport du Comité consultatif fédéral-provincial de l'hygiène du milieu et du travail.
- Santos, S., L. Maitre, C. Warembourg, L. Agier, L. Richiardi, X. Basagaña, and M. Vrijheid. 2020. "Applying the exposome concept in birth cohort research: a review of statistical approaches." *European Journal of Epidemiology* 35 (3):193-204. doi: 10.1007/s10654-020-00625-4.
- Sarigiannis D., and Hansen. (2012) Considering the cumulative risk of mixtures of chemicals - A challenge for policy makers. *Environmental Health* 11. doi: 10.1186/1476-069X-11-S1-S18.
- Sarigiannis D. A. (2017) Assessing the impact of hazardous waste on children's health: The exposome paradigm. *Environmental Research* 158:531-541. doi: 10.1016/j.envres.2017.06.031.
- Sarigiannis, D. A., and S. P. Karakitsios. 2018. "Addressing complexity of health impact assessment in industrially contaminated sites via the exposome paradigm." *Epidemiologia e Prevenzione* 42 (5-6):37-48. doi: 10.19191/EP18.5-6.S1.P037.086.

Sasso A., Isukapalli S., and Georgopoulos P. (2010) A generalized physiologically-based toxicokinetic modeling system for chemical mixtures containing metals. *Theoretical Biology and Medical Modelling* 7. doi: 10.1186/1742-4682-7-17.

SCHER, SCEBIHR, SCCS (2011) Toxicity and Assessment of Chemical Mixtures. Brussels: Scientific Committee on Health and Environmental Risks, Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, Scientific Committee on Consumer Safety.

Scholze, M., E. Silva, and A. Kortenkamp (2014) Extending the applicability of the dose addition model to the assessment of chemical mixtures of partial agonists by using a novel toxic unit extrapolation method. *PLoS One* 9 (2):e88808. doi: 10.1371/journal.pone.0088808.

Seeber, A., B. Sietmann, and M. Zupanec (1996) In search of dose-response relationships of solvent mixtures to neurobehavioural effects in paint manufacturing and painters. *Food and Chemical Toxicology* 34 (11-12):1113-1120. doi: 10.1016/S0278-6915(97)00082-3.

Senier, L., P. Brown, S. Shostak, and B. Hanna (2017) The Socio-Exposome: Advancing Exposure Science and Environmental Justice in a Post-Genomic Era. *Environ Sociol* 3 (2):107-121. doi: 10.1080/23251042.2016.1220848.

Sexton K., and Hattis D. (2007) Assessing Cumulative Health Risks from Exposure to Environmental Mixtures—Three Fundamental Questions. *Environmental Health Perspectives* 115 (5):825-832. doi: 10.1289/ehp.9333.

SFSE (2013) Société française de santé environnement. Recommandation de la SFSE sur la prise en compte des mélanges en évaluation des risques sanitaires. 5 pages. Disponible en ligne : www.sfse.org

Shaffer, R. M., M. N. Smith, and E. M. Faustman (2017) Developing the regulatory utility of the exposome: Mapping exposures for risk assessment through lifestage exposome snapshots (LEnS). *Environmental Health Perspectives* 125 (8). doi: 10.1289/EHP1250.

Siroux, V., L. Agier, and R. Slama (2016) The exposome concept: A challenge and a potential driver for environmental health research. *European Respiratory Review* 25 (140):124-129. doi: 10.1183/16000617.0034-2016.

Soeborg, T., H. Frederiksen, and A. M. Andersson (2012) Cumulative risk assessment of phthalate exposure of Danish children and adolescents using the hazard index approach. *Int J Androl* 35 (3):245-52. doi: 10.1111/j.1365-2605.2011.01240.x.

Solomon, K. R., M. F. Wilks, A. Bachman, A. Boobis, A. Moretto, T. P. Pastoor, R. Phillips, and M. R. Embry. 2016. "Problem formulation for risk assessment of combined exposures to chemicals and other stressors in humans." *Critical Reviews in Toxicology* 46 (10):835-844. doi: 10.1080/10408444.2016.1211617

Sprague, J. B. (1970) Measurement of pollutant toxicity to fish. II. Utilizing and applying bioassay results. *Water Research* 4 (1):3-32. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354\(70\)90018-7](http://dx.doi.org/10.1016/0043-1354(70)90018-7).

Sprong, C. Crépet, A. Metruccio, F. Blaznike, U. Anagnostopoulos, C. Christodoulou, D.L. Hamborg Jensen, B. Kennedy, M. González, N. Rehurkova, I. Ruprich, J. Dirk te Biesebeek, J. Vanacker, M. Moretto, A. van Klaveren, J. (2020). Cumulative dietary risk assessment overarching different regulatory silos using a margin of exposure approach: A case study with three chemical silos. *Food and Chemical Toxicology* 142 (2020) 111416.

Steckling, N., A. Gotti, S. Bose-O'Reilly, D. Chapizanis, D. Costopoulou, F. De Vocht, M. Garí, J. O. Grimalt, E. Heath, R. Hiscock, M. Jagodic, S. P. Karakitsios, K. Kedikoglou, T. Kosjek, L. Leondiadis, T. Maggos, D. Mazej, K. Polańska, A. Povey, J. Rovira, J. Schoierer, M. Schuhmacher, Z. Špirić, A. Stajniko, R. Stierum, J. S. Tratnik, I. Vassiliadou, I. Annesi-Maesano, M. Horvat, and D. A. Sarigiannis. 2018. "Biomarkers of exposure in environment-wide association studies – Opportunities to decode the exposome using human biomonitoring data." *Environmental Research* 164:597-624. doi: 10.1016/j.envres.2018.02.041.

Steer, C. D., P. Bolton, and J. Golding (2015) Preconception and prenatal environmental factors associated with communication impairments in 9 year old children using an exposome-wide approach. *PLoS One* 10 (3):e0118701. doi: 10.1371/journal.pone.0118701.

Stewart A., and J. Carter. (2009) Towards the development of a multidisciplinary understanding of the effects of toxic chemical mixtures on health. *Environmental Geochemistry and Health* 31 (2):239-251. doi: 10.1007/s10653-008-9210-9.

Su, F. C., B. Mukherjee, and S. Batterman (2014) Modeling and analysis of personal exposures to VOC mixtures using copulas. *Environment International* 63:236-245. doi: 10.1016/j.envint.2013.11.004.

Suomi, Johanna, Pirkko Tuominen, and Kirsti Savela. 2017. "Dietary exposure of Finnish children to heavy metal mixture – a cumulative assessment." *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* 23 (5):1234-1248. doi: 10.1080/10807039.2017.1314760.

Swartjes, F. A. (1999) Risk-based assessment of soil and groundwater quality in The Netherlands: standards and remediation urgency. *Risk Anal* 19 (6):1235-49.

Syberg, K., T. Backhaus, G. Banta, P. Bruce, M. Gustavsson, W. R. Munns, Jr., R. Rämö, H. Selck, and J. S. Gunnarsson. 2017. "Toward a conceptual approach for assessing risks from chemical mixtures and other stressors to coastal ecosystem services." *Integrated Environmental Assessment and Management* 13 (2):376-386. doi: 10.1002/ieam.1849.

Tamayo-Uria, I., L. Maitre, C. Thomsen, M. J. Nieuwenhuijsen, L. Chatzi, V. Siroux, G. M. Aasvang, L. Agier, S. Andrusaityte, M. Casas, M. de Castro, A. Dedele, L. S. Haug, B. Heude, R. Grazuleviciene, K. B. Gutzkow, N. H. Krog, D. Mason, R. R. C. McEachan, H. M. Meltzer, I. Petraviciene, O. Robinson, T. Roumeliotaki, A. K. Sakhi, J. Urquiza, M. Vafeiadi, D. Waiblinger, C. Warembourg, J. Wright, R. Slama, M. Vrijheid, and X. Basagaña. 2019. "The early-life exposome: Description and patterns in six European countries." *Environment International* 123:189-200. doi: 10.1016/j.envint.2018.11.067.

Tan, Y. M., H. Clewell, J. Campbell, and M. Andersen (2011) Evaluating pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions with computational models in supporting cumulative risk assessment. *Int J Environ Res Public Health* 8 (5):1613-30. doi: 10.3390/ijerph8051613

Teuschler, L. K., G. E. Rice, C. R. Wilkes, J. C. Lipscomb, and F. W. Power (2004) Feasibility study of cumulative risk assessment methods for drinking water disinfection by-product mixtures. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part a-Current Issues* 67 (8-10):755-777. doi: 10.1080/15287390490428224.

Thakur, I. S., and D. Roy. 2020. "Environmental DNA and RNA as records of human exposome, including biotic/abiotic exposures and its implications in the assessment of the role of environment in chronic diseases." *International Journal of Molecular Sciences* 21 (14):1-15. doi: 10.3390/ijms21144879.

Traoré T, Béchaux C, Sirot V., Crépet A. (2016) To which chemical mixtures is the French population exposed? Mixture identification from the second French Total Diet Study. *Food and Chemical Toxicology* (98), 179–188

US EPA (1986) Guidelines for the health assessment of chemical mixtures. . Washington (DC): US Environmental Protection Agency.

US EPA (2000) Supplementary guidance for conducting health risk assessment of chemical mixtures. Washington (DC): US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development. August 1, 2000. EPA/630/R-00/002. Washington, DC:

US EPA (2002) Guidance on Cumulative Risk Assessment of Pesticide Chemicals That Have a Common Mechanism of Toxicity. Washington (DC): US Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs.

USEPA (2003) Framework for Cumulative Risk Assessment. EPA/630/P-02/001F. Risk Assessment Forum, Washington, DC, USA

US EPA (2006) Considerations for developing alternative health risk assessment approaches for addressing multiple chemicals, exposures and effects (External Review Draft). Washington (DC): US Environmental Protection Agency.

US EPA (2006b) Organophosphorus Cumulative Risk Assessment 2006 Update. U.S. Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs

US EPA (2011) Pyrethrins/Pyrethroid Cumulative Risk Assessment. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Programs

US FDA (2012). Draft: Guidance for Industry: Drug Interaction Studies—Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. US Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research, Washington, DC, USA

van den Berg, M., L. Birnbaum, A. T. Bosveld, B. Brunstrom, P. Cook, M. Feeley, J. P. Giesy, A. Hanberg, R. Hasegawa, S. W. Kennedy, T. Kubiak, J. C. Larsen, F. X. van Leeuwen, A. K. Liem, C. Nolt, R. E. Peterson, L. Poellinger, S. Safe, D. Schrenk, D. Tillitt, M. Tysklind, M. Younes, F. Waern, and T. Zacharewski (1998) Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect* 106 (12):775-92.

Van den Berg, M., L. S. Birnbaum, M. Denison, M. De Vito, W. Farland, M. Feeley, H. Fiedler, H. Hakansson, A. Hanberg, L. Haws, M. Rose, S. Safe, D. Schrenk, C. Tohyama, A. Tritscher, J. Tuomisto, M. Tysklind, N. Walker, and R. E. Peterson (2006) The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 93 (2):223-41. doi: 10.1093/toxsci/kfl055.

Van der Voet, H. Kruisselbrink, J.W. de Boer, W.J. van Lenthe, M.S. van den Heuvel, J.J.B. (Hans). Crépet, A. Kennedy, M.C. Zilliacus, J. Beronius, A. Tebby, C. Brochot, C. Luckert, C. Lampen, A. Rorije, E. Sprong, C. Van Klaveren, J.D. (2020). The MCRA toolbox of models and data to support chemical mixture risk assessment. *Food and Chemical Toxicology* 138 (2020) 111185.

van Drooge, Barend L., Esther Marco, and Joan O. Grimalt. 2018. "Atmospheric pattern of volatile organochlorine compounds and hexachlorobenzene in the surroundings of a chlor-alkali plant." *Science of The Total Environment* 628-629:782-790. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.088>.

Vanacker, M., J. Tressou, G. Perouel, P. Glorennec, and A. Crépet. 2020. "Combining data from heterogeneous surveys for aggregate exposure: Application to children exposure to lead in France." *Environmental Research* 182. doi: 10.1016/j.envres.2019.109069.

Vejdovszky, K., D. Mihats, A. Griesbacher, J. Wolf, J. Steinwider, J. Lueckl, B. Jank, I. Kopacka, and E. Rauscher-Gabernig. 2019. "Modified Reference Point Index (mRPI) and a decision tree for deriving uncertainty factors: A practical approach to cumulative risk assessment of food contaminant mixtures." *Food and Chemical Toxicology* 134. doi: 10.1016/j.fct.2019.110812.

Vincent, R., and F. Clerc (2012) Expositions combinées aux agents chimiques en milieux professionnel : évaluation de la situation en France." Les risques liés aux multi-expositions, conférences INRS sur la recherche en santé au travail Nancy, France.

Vineis, P., M. Chadeau-Hyam, H. Gmuender, J. Gulliver, Z. Herceg, J. Kleinjans, M. Kogevinas, S. Kyrtopoulos, M. Nieuwenhuijsen, D. H. Phillips, N. Probst-Hensch, A. Scalbert, R. Vermeulen, and C. P. Wild. (2017) The exposome in practice: Design of the EXPOsOMICS project. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 220 (2):142-151. doi: 10.1016/j.ijheh.2016.08.001.

Vineis, P., C. A. Demetriou, and N. Probst-Hensch. 2020. "Long-term effects of air pollution: an exposome meet-in-the-middle approach." *International Journal of Public Health* 65 (2):125-127. doi: 10.1007/s00038-019-01329-7.

Vizcaino, Esther, Joan O. Grimalt, Ana Fernández-Somoano, and Adonina Tardon. 2014. "Transport of persistent organic pollutants across the human placenta." *Environment International* 65:107-115. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.01.004>.

Vrijheid M., Slama R., Robinson O., Chatzi L., Coen M., van den Hazel P., Thomsen C., Wright J., Athersuch T., Avellana N., Basagaña X., Brochot C., Bucchini L., Bustamante M., Carracedo A., Casas M., Estivill X., Fairley L., van Gent D., Gonzalez J., Granum B., Gražulevičienė R., Gutzkow, Jordi Julvez, Hector C. Keun, Manolis Kogevinas, Rosemary R. C. McEachan, Helle Margrete Meltzer, Eduard Sabidó, Per E. Schwarze, Valérie Siroux, Jordi Sunyer, Elizabeth J. Want, Florence Zeman, and Mark J. Nieuwenhuijsen. 2014. "The human early-life exposome (HELIX): project rationale and design." *Environmental health perspectives* 122 (6):535-544. doi: 10.1289/ehp.1307204.

Vrijheid, M., S. Fossati, L. Maitre, S. Márquez, T. Roumeliotaki, L. Agier, S. Andrusaityte, S. Cadiou, M. Casas, M. de Castro, A. Dedele, D. Donaire-Gonzalez, R. Grazuleviciene, L. S. Haug, R. McEachan, H. M. Meltzer, E. Papadopoulou, O. Robinson, A. K. Sakhi, V. Siroux, J. Sunyer, P. E. Schwarze, I. Tamayo-Uria, J. Urquiza, M. Vafeiadi, A. Valentin, C. Warembourg, J. Wright, M. J. Nieuwenhuijsen, C. Thomsen, X. Basagaña, R. Slama, and L. Chatzi. 2020. "Early-life environmental exposures and childhood obesity: An exposome-wide approach." *Environmental Health Perspectives* 128 (6):1-14. doi: 10.1289/EHP5975.

Walker, D. I., D. Valvi, N. Rothman, Q. Lan, G. W. Miller, and D. P. Jones. 2019. "The metabolome: A key measure for exposome research in epidemiology." *Curr Epidemiol Rep* 6:93-103.

Wegglar, B. A., B. Gruber, and J. F. Focant. 2020. "Comprehensive two-dimensional gas-chromatography to study the human exposome: Current trends and perspectives." *Current Opinion in Environmental Science and Health* 15:16-25. doi: 10.1016/j.coesh.2020.02.011.

Weisel, C.P. (2005) Relationship of Indoor, Outdoor and Personal Air (RIOPA) study: study design, methods and quality assurance/control results. *J Expo Anal Environ Epidemiol.* 2005 Mar;15(2):123-37.

Wild, C. P. (2005) Complementing the genome with an "exposome": The outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 14 (8):1847-1850. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0456.

Wild, C. P.(2012) The exposome: From concept to utility.*International Journal of Epidemiology* 41 (1):24-32. doi: 10.1093/ije/dyr236.

Wilkinson, C. F., G. R. Christoph, E. Julien, J. M. Kelley, J. Kronenberg, J. McCarthy, and R. Reiss. (2000) Assessing the risks of exposures to multiple chemicals with a common mechanism of toxicity: How to cumulate? *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 31 (1):30-43. doi: 10.1006/rtph.1999.1361.

Williams, A., J. K. Buick, I. Moffat, C. D. Swartz, L. Recio, D. R. Hyduke, H. H. Li, A. J. Fornace, Jr., J. Aubrecht, and C. L. Yauk. (2015) A predictive toxicogenomics signature to classify genotoxic versus non-genotoxic chemicals in human TK6 cells. *Data Brief* 5:77-83. doi: 10.1016/j.dib.2015.08.013.

Winqvist A., Kirrane E., Klein M., Strickland M., Darrow L., Sarnat S., Gass K., Mulholland J., Russell A., and Tolbert P. (2014) Joint Effects of Ambient Air Pollutants on Pediatric Asthma Emergency Department Visits in Atlanta, 1998-2004. *Epidemiology* 25 (5):666-673. doi: 10.1097/EDE.000000000000146.

Wishart, D., D. Arndt, A. Pon, T. Sajed, A. C. Guo, Y. Djombou, C. Knox, M. Wilson, Y. Liang, J. Grant, Y. Liu, S. A. Goldansaz, and S. M. Rappaport (2015) T3DB: the toxic exposome database. *Nucleic Acids Res* 43 (Database issue):D928-34. doi: 10.1093/nar/gku1004.

Wolansky, M. J., C. Gennings, and K. M. Crofton. (2005) Relative potencies for acute effects of pyrethroids on motor function in rats. *Toxicol Sci* 89 (1):271-7. doi: 10.1093/toxsci/kfj020.

Xue, J., Y. Lai, C. W. Liu, and H. Ru. 2019. "Towards mass spectrometry-based chemical exposome: Current approaches, challenges, and future directions." *Toxics* 7 (3). doi: 10.3390/toxics7030041.

Yang, X., M. Zhang, T. Lu, S. Chen, X. Sun, Y. Guan, Y. Zhang, T. Zhang, R. Sun, B. Hang, X. Wang, M. Chen, Y. Chen, and Y. Xia. 2020. "Metabolomics study and meta-analysis on the association between maternal pesticide exposome and birth outcomes." *Environmental Research* 182. doi: 10.1016/j.envres.2019.109087.

Yu, Q. J., Q. Cao, and D. W. Connell. (2011) An overall risk probability-based method for quantification of synergistic and antagonistic effects in health risk assessment for mixtures: theoretical concepts. *Environ Sci Pollut Res Int* 19 (7):2627-33. doi: 10.1007/s11356-012-0878-0.

Zare Jeddi M, Hopf NB, Viegas S, Price AB, Paini A, van Thriel C, Benfenati E, Ndaw S, Bessems J, Behnisch PA, Leng G, Duca RC, Verhagen H, Cubadda F, Brennan L, Ali I, David A, Mustieles V, Fernandez MF, Louro H, Pasanen-Kase R. Towards a systematic use of effect biomarkers in population and occupational biomonitoring. *Environ Int*. 2021 Jan;146:106257. doi: 10.1016/j.envint.2020.106257. Epub 2020 Dec 15. PMID: 33395925.

Zoupa, M. Zwart, E. P. Gremmer, E.R. Nugraha, A. Compeer, S. Slob, W. van der Ven, L.T.M. (2020). Dose addition in chemical mixtures inducing craniofacial malformations in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Food and Chemical Toxicology*. (137), 111117.

ANNEXES

Annexe 1 : Applications réglementaires de l'évaluation du risque cumulé

• Annexe 1.1 Produits phytopharmaceutiques

Les réglementations relatives à la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (règlement (CE) N°1107/2009) et aux limites maximales de résidus de pesticides (règlement (CE) N°396/2005) précisent que les effets cumulés et/ou les effets en synergie de pesticides devront être pris en compte pour l'évaluation du risque alimentaire lorsque les méthodes le permettront.

Depuis, la modélisation de l'évaluation du risque cumulé pour les consommateurs est devenue une des priorités de l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA), de la Commission Européenne et de plusieurs Etats Membres de l'Union Européenne. Le développement de ces méthodes a progressé et s'oriente vers le regroupement de substances ayant des effets sur les mêmes organes et/ou partageant des mécanismes d'action qui s'appuient sur l'identification de groupes de substances actives phytopharmaceutiques présentant des effets sur les mêmes organes et/ou avec des mécanismes d'action communs.

En 2009, un projet pilote a été initié par l'EFSA sur un groupe de pesticides de la famille des triazoles pour évaluer différentes méthodologies d'évaluation des effets cumulés de ces pesticides *via* l'alimentation. Cet exercice a permis d'affiner l'approche progressive d'évaluation du risque cumulé sur les étapes de caractérisation des dangers, d'évaluation des expositions et de caractérisation des risques (EFSA, 2009). Depuis, de nombreux avis de l'EFSA ont été publiés pour préciser la méthodologie à appliquer.

En 2013, l'EFSA a développé une approche de regroupement des pesticides qui ouvre la voie à la mise en œuvre de l'évaluation du risque cumulé (EFSA, 2013a) décrite précédemment dans la partie 3.2.2. La méthodologie générale utilisée pour classer des pesticides dans ce qu'on appelle des « groupes d'évaluation cumulative » (Cumulative assessment group CAG) repose sur l'identification de composés présentant des propriétés toxicologiques similaires pour un organe ou un système spécifique. Dans une première étape, le groupe scientifique de l'EFSA sur les produits phytopharmaceutiques et leurs résidus (PPR) a appliqué cette méthodologie pour définir des groupes de pesticides toxiques pour la thyroïde et le système nerveux central.

Un des avis de l'EFSA concerne spécifiquement la différence de mode d'action pour des pesticides dont l'effet est commun sur le même organe cible (EFSA, 2013b). En l'absence de méthode d'évaluation du risque cumulé pour l'indépendance de l'action, l'EFSA recommande l'additivité des doses comme approche pragmatique et conservatrice dans ce cas qui supporte l'approche d'effet commun (Fox, 2017).

En parallèle, le projet européen Acropolis a abouti au développement d'un logiciel permettant d'évaluer l'exposition cumulée à un groupe de pesticides. Ce logiciel permet de répondre à la majorité des contraintes identifiées par l'EFSA.

• Annexe 1.1 bis : Produits biocides

Le règlement biocide indique explicitement qu'il faut tenir compte de l'ensemble des substances actives et des substances dites « préoccupantes » quand on réalise l'évaluation des risques pour un produit.

À cet effet, une évaluation des risques est effectuée afin de déterminer l'acceptabilité ou la non-acceptabilité de tous les risques mis en évidence. Cette évaluation porte sur les risques liés aux

différents composants pertinents du produit biocide et tient dûment compte de tous les effets cumulés et synergiques.

• Annexe 1.2 : Eaux destinées à la consommation humaine (EDCH)

Dans la réglementation des EDCH introduite dans la partie 2.1, les familles de polluants considérés sont les HAP, trichloroéthylène et tétrachloroéthylène, pesticides et trihalométhanes totaux.

L'évaluation des risques sanitaires à la présence de micro-organismes ou de substances chimiques dans les ressources en eau et l'EDCH dans le cas de situation de dépassement des teneurs maximales est réalisée par l'Anses. Le travail réalisé par l'Anses revient à déterminer pour certains paramètres physico-chimiques une concentration dans l'eau supérieure à la valeur réglementaire et qui ne présenterait aucun risque pour la santé d'une personne qui consommerait cette eau pendant une durée limitée. La démarche générale proposée repose sur le recueil et l'analyse des données toxicologiques et d'exposition de la population afin d'aboutir à des recommandations pour établir des seuils de gestion en cas de dépassement (Afssa, 2007).

Plusieurs mélanges ont été considérés dans ces évaluations. De façon générale comme préconisé par l'OMS dans ses directives, pour les substances ayant un mécanisme ou mode d'action similaires, il est approprié de considérer les effets comme additif. Sur l'exemple des composés organiques, les travaux de l'Anses ont reposé sur les approches suivantes :

- Pour les HAP, l'évaluation selon l'approche par équivalent toxique a été retenue en considérant un mélange de 15 HAP visés par la norme NF EN 17993 pour le dosage des HAP dans l'eau et l'utilisation des facteurs d'équivalence toxique (TEF). Les HAP les plus fréquemment détectés étaient le fluoranthène, le phénanthrène et le fluorène qui ne sont pas les plus toxiques (Afssa, 2007).
- Pour le trichloroéthylène et tétrachloroéthylène, l'évaluation des risques a été réalisée pour chaque composé seul et pour le mélange avec en première approche l'addition des quotient de danger représentant une démarche conservatrice et identique à la valeur limite mais non fondés sur les données expérimentales qui sont peu nombreuses (Afssa, 2007 ; Anses, 2016a).
- Pour les pesticides, l'évaluation a été faite en se basant sur des valeurs sanitaires maximales (VMAX) déterminées par l'Anses pour des substances actives et métabolites pour évaluer les risques sur la santé liés à leur présence (Anses, 2019). En cas de présence simultanée de différents pesticides et métabolites, l'évaluation des risques était menée en considérant un effet additif (Afssa, 2007).
- Les trihalométhanes : l'évaluation a porté sur les données toxicologiques du NTP et des données épidémiologiques relevant des associations entre l'excès de risque de cancer de la vessie chez l'homme et l'exposition à une eau contaminée en THM dès 50 µg.L⁻¹. Il est souligné le besoin d'études complémentaires notamment sur le mécanisme d'action (Afssa, 2010).

L'Anses évalue également les risques liés à la présence de résidus de médicaments dans les EDCH à partir d'une démarche méthodologique générale proposée (Anses, 2013). Il est pris en compte les métabolites formés chez l'Homme ou l'animal ainsi que les produits de transformations formés dans l'environnement. Dans le cas d'application à la carbamazépine utilisé en médecine humaine, il a été considéré que le métabolite principal, la 10,11-époxy-carbamazépine présente la même activité pharmacologique et donc la VTR a été déterminé pour la somme des 2 molécules (mère + métabolite).

• Annexe 1.3 : Alimentation

Dans la réglementation sur le domaine de l'alimentation introduite dans la partie 2.2, les familles de polluants considérés appartiennent principalement à des familles chimiques comme les exemples données sur les doses de référence pour des parabènes, des organo-étains et des dioxines.

Les Etudes de l'Alimentation Totale (EAT) lancées en France dès 2000 permettent de surveiller l'exposition des populations via l'alimentation à des substances d'intérêt en termes de santé publique en estimant la composition/contamination des aliments « tels que consommés ». Deux premières études ont porté sur la population française de plus de 3 ans et l'étude la plus récente a ciblé de manière spécifique les enfants de moins de 3 ans.

L'évaluation des risques sur la santé associée à l'exposition *via* l'alimentation est réalisée dans le cadre de ces études par l'Anses. Plusieurs mélanges ont été considérés dans ces évaluations (Anses, 2016b). Sur l'exemple des composés organiques, les travaux de l'Anses ont reposé sur les approches suivantes :

- Dioxines et furanes (PCDD/F) : Regroupant de nombreux congénères, l'évaluation selon l'approche par équivalent toxique a été retenue en considérant la dose de référence de $0,7 \text{ pg TEQ}_{\text{OMS}} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ issue de la réévaluation de l'US EPA de 2012. Cette famille a été prise en compte seul.
- Polychlorobiphényles (PCB) : parmi les différents congénères, 12 sont considérés comme « dioxin-like » (DL) d'un point de vue toxicologique en se liant au récepteur cellulaire Ah. L'évaluation des risques pour l'ensemble des PCB a été réalisé sur 6 congénères « indicateurs »: PCB-28, 52, 101, 138, 153 et 180 avec une dose de référence de $10 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$. → le mélange « PCDD/F-PCB-DL » a fait l'objet de recommandations soulignant les incertitudes de cette approche. En effet, cette approche ne devrait pas se restreindre aux seuls PCDD/F et PCB-DL du fait de l'existence non négligeable d'autres contaminants alimentaires ayant un effet DL.
- PBDE : 7 principaux congénères (BDE-28, -47, -99, -100, -153, -154 et -183) ont été considérés en mélange et rapprochés des PCB-NDL avec un seuil de $10 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ d'une part et le BDE-209 seul d'autre part.
- HBCDD : constitué d'un mélange de 3 stéréoisomères a été évalué en appliquant l'approche de marge d'exposition par rapport à la dose de référence de $3000 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ pour la somme des doses d'exposition.
- PBB : Regroupant aussi de nombreux congénères, les données toxicologiques sont limitées. Une dose de référence de $0.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ a été appliquée à la somme des expositions des 3 congénères analysés (PBB-52, 101 et 153).
- HAP : Famille de plusieurs centaines de molécules, la toxicité d'un nombre restreint est connue. L'évaluation du risque a été réalisée selon 2 approches recoupant avec les exemples précédents :
 - HAP4 : Application d'une dose de référence de $0,34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ à la somme de 4 HAP marqueur d'exposition et d'effet des HAP dans l'alimentation : benzo(a)anthracène (BaA), Benzo[a]Pyrène (B[a]P), Benzo[b]Fluoranthène (BbF) et chrysène (CHR)
 - HAP 11 : Utilisation de facteurs d'équivalence toxiques (TEF) basés sur le pouvoir cancérigène relatif des 11 HAP les plus toxiques et les plus représentatifs de la contamination alimentaire : HAP4 + Benzo[g,h,i]perylène (BghiP), Benzo[k]fluoranthène (BkF), DiBenzo[a,h]anthracène (DBahA), Indeno[1,2,3-cd]pyrène (IP), Anthracène (AN), Benzo[j]fluoranthène (BjF) et Fluoranthène (FA). Cette approche repose sur le calcul d'une dose de référence de $5 \text{ ng TEQ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$
- Stéroïdes naturels : 4 stéroïdes ont été analysés dans le cadre de cette étude. L'absence de repère toxicologiques n'a pas permis de réaliser une évaluation des risques. Néanmoins, il a été souligné la nécessité de recourir à une approche mélange / activité sur la base de mesure biologique (ex. récepteur assays).

- **Annexe 1.4 : Installations classées pour l'environnement (ICPE)**

La réglementation définit le contenu de l'étude d'impact demandé pour une installation industrielle soumise à autorisation (Article R 122-5 et R. 512-8 du code de l'environnement). Les conséquences du projet d'installations classées sur la santé des populations sont notamment évaluées.

Depuis 2000, une analyse des effets sur la santé réalisée dans les études d'impact est développée selon la méthodologie d'évaluation des risques sanitaires (ERS) et s'appuie, notamment, sur la base de guides développés par Santé publique France (SPF, ex-InVS) et l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (INERIS).

En 2013, cette démarche a évolué et s'articule autour de deux outils, l'ERS et l'IEM (interprétation de l'état des milieux). La circulaire du 9 août 2013 décrit cette nouvelle méthodologie et un nouveau guide, proposé par l'INERIS, l'accompagne.

Dans le cas d'exposition simultanée à plusieurs substances toxiques, le guide INERIS décrit la règle générale qui consiste à additionner les quotients de danger des substances provoquant le même effet sur le même organe, par le même mécanisme biologique. En pratique, il est décrit l'addition des HQ pour lesquels les effets associés aux VTR portent sur les mêmes organes cibles.

Par simplification, il est aussi pratiqué d'additionner l'ensemble des HQ, à titre indicatif, si la somme reste inférieure à 1 (ce qui permet de justifier de l'absence de risque préoccupant).

Pour les effets sans seuil, la pratique est de sommer tous les excès de risque individuel pour calculer un excès de risque pour tout effet sans seuil confondu.

- **Annexe 1.5 : Sites et sols pollués**

Il n'y a pas de cadre juridique spécifique en matière de sites et sols pollués. Cependant, la gestion s'appuie principalement sur la législation des ICPE décrites précédemment et notamment sur les dispositions relatives à la prévention des pollutions, des risques et des nuisances du code de l'environnement.

Une méthodologie nationale de gestion des sites et sols pollués a été mise en place il y a 10 ans et actualisée en 2017¹⁷. Elle considère l'usage des milieux et engage à définir les modalités de suppression des pollutions au cas par cas, compte tenu des techniques disponibles et de leurs coûts économiques. Le maintien de pollution résiduelle sur un site est lié à sa compatibilité avec l'usage retenu (industriel, résidentiel, ...) et, si nécessaire, assorti de conditions de maîtrise de leur impact sanitaire ou environnemental.

L'évaluation quantitative des risques sanitaires est dénommée « analyse des risques résiduels » (ARR) car elle est réalisée dans le cadre de la validation des mesures de gestion permettant de dépolluer, d'éliminer les sources de pollution ou de supprimer les vecteurs.

Il est retenu l'additivité des risques liés aux différents polluants et/ou différentes voies d'exposition en conduisant pour les effets à seuil à l'addition des quotients de danger uniquement pour les substances ayant le même mécanisme d'action toxique sur le même organe cible alors que pour les effets sans seuils tous les excès de risque de cancer sont additionnés. Il n'est pas tenu compte des autres apports environnementaux.

¹⁷ INSTRUCTION INTERMINISTERIELLE N° DGS/EA1/DGPR/DGAL/2017/145 du 27 avril 2017 relative à la gestion des sites pollués et de leurs impacts nécessitant la mise en œuvre de mesures de gestion sanitaire et d'études de santé et/ou de mesures de gestion sanitaire des productions animales et végétales

BIBLIOGRAPHIE :

Afssa (2007) Evaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement des limites et références de qualité des eaux destinées à la consommation humaine. Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Juin 2004 à avril 2007 – Tome 1. 250 pages.

Afssa (2010). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement de la limite de qualité du paramètre « trihalométhanes totaux » dans les eaux destinées à la consommation humaine. Saisine 2004-SA-0070. 27 pages

Anses (2013) Évaluation des risques sanitaires liés à la présence de résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine : méthode générale et application à la carbamazépine et à la danofloxacine. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail et Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (Ansm) Saisine « 2009-SA-0210 – Médicaments et EDCH » RAPPORT d'expertise collective Février 2013

Anses (2016a) Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement de la limite de qualité du trichloroéthylène et du tétrachloroéthylène Actualisation de l'avis de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments du 28 décembre 2006. Saisine 2013-SA-0205. 49 pages

Anses (2016b) Etude de l'alimentation totale infantile. Tome 2 – Partie 3 Composés organiques. Rapport d'expertise collective. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - Saisine « 2010-SA-0317 ». Septembre 2016

Annexe 2 : Exemples d'utilisation de l'approche « *hazard index* » (HI)

| Référence | Pays, contexte | Contaminants (n) | Organe cible ou toxicité considéré | VTR utilisée | Résultats (HI > ou < 1) |
|----------------------------------|--|--|--|---|--|
| Pierson <i>et al.</i> (1991) | USA, plaintes sanitaires d'employés dans un bâtiment rénové | COV (n=9) mais restriction ensuite aux substances dont la VTR est fondée sur un organe cible commun : n=3 : cumène, toluène, xylène | Système nerveux central | RfC, US EPA | Dépassement du seuil |
| Evans <i>et al.</i> (2014) | USA (San Francisco), mesures personnelles de l'exposition sur 851 personnes (NHANES) | COV (n=10) : benzène, toluène, éthylbenzène, <i>m,p</i> -xylène, <i>o</i> -xylène, 1,4-dichlorobenzène, chloroforme, trichloroéthylène, methyl- <i>tert</i> -butyléther + le bruit | Audition | RfC, US EPA + valeur limite OMS pour le bruit (HQ pour le bruit = intensité sonore divisé par valeur limite OMS de 70 dB) | Dépassement du seuil. Bruit = contributeur principal |
| Mishra <i>et al.</i> (2015) | Australie, campagne de mesure de COV dans 23 classes à Brisbane | COV (n=49) | Tous types | CLI, AgBB et Anses | Dépassement du seuil pour 2 classes sur 23. Phénol principal contributeur (mise en évidence par MCR) |
| Nie <i>et al.</i> (2018) | Chine, mesures réalisées sur un centre de compostage des déchets solides | COV (n=44) | Tous types | RfC, US EPA IUR | HI < 1 Total risk > 10 ⁻⁴ |
| Pack <i>et al.</i> (2018) | Corée du Sud, Fumée de cigarette des 5 principales marques vendues | composés volatils, non volatils et semi-volatils (n=38) | Tous types | RfC, US EPA IUR (inhalation unit risk value) | HI compris entre 367 et 1225 |
| Pelletier <i>et al.</i> (2019) | France, données de contamination dans les environnements intérieurs | COSV (n=32) | Neurotoxicité, reprotoxicité et génotoxicité | RfD, US EPA | HI > 1 pour 95 % des enfants exposés au mélange de 11 composés reprotoxiques |
| Benson (2009) | USA, présence ubiquitaire de 6 phtalates (données NHANES) | Phtalates (n=6) | Reproduction | DJT, EFSA ; DNEL, Danish EPA ; ad hoc pour DEHP | Dépassement du seuil en fonction des tranches d'âges ou de la valeur de l'exposition utilisée (médiane, P95) |
| Christensen <i>et al.</i> (2014) | USA, population générale, mesures urinaires NHANES (même que Benson 2009) | Phtalates (n=5) : DEHP, DnBP, DiBP, DiNP, BBP | Reproduction | DJT, EFSA ; DNEL, Danish EPA ; ad hoc pour DEHP | Dépassement du seuil en fonction des tranches d'âges ou de la valeur de l'exposition utilisée (médiane, P95). DEHP et DBP = contributeurs principaux |
| Koch <i>et al.</i> (2011) | Allemagne, mesures urinaires de phtalates chez des enfants scolarisés | Phtalates (n=3) : DEHP, DnBP, DiBP | Reproduction | DJT, EFSA + ad hoc pour DiBP | Dépassement du seuil pour 28 enfants sur 108 |
| Pan <i>et al.</i> (2011) | Chine, travailleurs exposés aux phtalates | Phtalates (n=2) : DEHP, DnBP | Reproduction | RfD, US EPA | Dépassement du seuil pour 90 % des travailleurs exposés et 2 % des non exposés |
| Soeborg <i>et al.</i> (2012) | Danemark, mesures urinaires chez 129 enfants et adolescents | Phtalates (n=5) : DiBP, DnBP, DEHP, BBP, DiNP | Reproduction | TDI, EFSA ; RfD-AA (Reference Doses for Anti-Androgenicity), Kortenkamp | Dépassement du seuil pour le 95 ^{ème} percentile |

| Référence | Pays, contexte | Contaminants (n) | Organe cible ou toxicité considéré | VTR utilisée | Résultats (HI> ou <1) |
|---------------------------------|---|--|---|--|---|
| Chang <i>et al.</i> (2014) | Taiwan, suite à un épisode de contamination de nourriture avec du DEHP | Phtalates (n=7) : BBP, DEP, DEHP, DiBP, DiDP, DiNP, DnBP | Foie, reproduction | DJT, EFSA ; RfD, US EPA ; TDI, OMS | Dépassement du seuil en fonction des effets et des tranches d'âge pour les percentiles élevés (95 ou 99 %) |
| Dewalque <i>et al.</i> (2015) | Belgique, mesures urinaires chez 138 femmes et 123 hommes dans la région de Liège | Phtalates (n=5) : DEP, DnBP, DiBP, BBP, DEHP | Reproduction | DJT, EFSA ; RfDAA, Kortenkamp | Dépassement du seuil à partir du 95ème percentile d'exposition |
| Kranich <i>et al.</i> (2014) | Danemark, mesures urinaires chez 33 jeunes hommes | Phtalates (n=5) : DnBP, DiBP, DEHP, BBP, DiNP | Reproduction | DJT, EFSA ; RfDAA, Kortenkamp | HI > 1 pour 2 hommes |
| Gao <i>et al.</i> (2016) | Chine, mesures urinaires chez 108 jeunes hommes | Phtalates (n=3) : DnBP, DiBP, DEHP | Reproduction | DJT, EFSA ; RfDAA, Kortenkamp | Dépassement du seuil pour les percentiles les plus élevés |
| Reyes & Price (2018) | USA, biosurveillance de la population générale (NHANES) | Phtalates (n=6 + métabolites) | Pas précisé | TDI, Efsa. | HI > 1 pour 0,8% de la population d'étude. |
| Ashworth <i>et al.</i> (2018) | Nouvelle-Zélande (contamination de jouets) | Phtalates | Toxicité développementale (DIBP, DBP, BBP, DEHP) Toxicité hépatique (DNOP, DINP, DIDP) | TDI, Efsa | Pour les effet développementaux : l'exposition cumulée aux phtalates montrent un HI>1. Pour les effets hépatotoxique l'exposition cumulée montre un HI<1. |
| Appel <i>et al.</i> , 2020 | Allemagne, données humaines de biomonitoring de 1988 à 2015 | Phtalates : DBP, DIBP, BBP, DEHP Et DINP | Effets antiandrogéniques | RfD from Kortenkamp and Koch (2010, 2020) TDI, Efsa | HI>1 entre 1988 et 1996 HI<1 entre 1997et 2015 |
| Borg <i>et al.</i> (2013) | Suède, émergence des PFAS comme contaminants environnementaux présents partout | acides perfluorocarboxyliques et perfluorosulfoniques (n=17) | Foie, reproduction | <i>Ad hoc</i> | HI<1 |
| Jensen <i>et al.</i> (2015) | Danemark, programme de surveillance des denrées alimentaires | Pesticides (n=157) | Tous types (pas de regroupement) | DJA, CE ; ADI, JMPR, ad hoc. Exclusion de 10 pesticides sans ADI | HI < 1. L'utilisation de produits danois permet de diviser le HI par 2. 9 plus gros contributeurs sur le HI (dont diazinon, ométhoate, méthyl-pyrimiphos) |
| Nascimento <i>et al.</i> (2015) | Brésil, données de composition en PM2,5 | Pesticides (n=12) | Regroupement en fonction du mode d'action Effets non cancérogènes | AOEL, Efsa | HI <1 |
| Li <i>et al.</i> (2016) | Chine, données de contamination des fruits par des pesticides. | Pyréthrinoides | Toxicité court et long terme | ADI, ARfD | Les risques cumulatifs pour les enfants étaient supérieurs à la population générale. Les HI de sept pyréthroides étaient tous inférieurs à 1, même en consommant quatre fruits en même temps selon la moyenne quotidienne de consommation |

| Référence | Pays, contexte | Contaminants (n) | Organe cible ou toxicité considéré | VTR utilisée | Résultats (HI> ou <1) |
|------------------------------------|--|---|---|---|--|
| | | | | | tant pour la population générale que pour les enfants sur le long terme. Les HI pour la cyperméthrine, la l-cyhalothrine et la bifenthrine pour la population générale excèdent 1 pour le court terme. |
| Iturburu <i>et al.</i> (2019) | Argentine, contamination des écosystèmes dans la province de La Pampa | Pesticides (n=44) | Effets écotoxicologiques | PNEC | Risque très élevé (HI>10) pour 22 sites, élevé (HI>1) pour 5 sites |
| Zng <i>et al.</i> (2018) | Chine, contamination des eaux de surface dans le réservoir de Qungshitan | Pesticides organo-chlorés | Effets écotoxicologiques | PNEC | HI>1 dans presque toutes les situations de mélange |
| Taghizadeh <i>et al.</i> (2019) | Iran, contamination de pistaches | Résidus de pesticides (n=18) | 6 groupes en fonction de la toxicité : Effets neurologiques Effets sur le développement et la reproduction Effets systémique Effets hématologique Effets thyroïdiens | ADI (OPenFoodTox), EFSA | Contribution de la consommation de pistache faible / risque lié à l'alimentation. HI >1 pour 5 groupes, le plus élevé étant pour les effets neurologiques |
| Roden <i>et al.</i> (2014) | USA, New Jersey. Campagne de mesure de 18 résidus pharmaceutiques dans l'eau de surface (30 locations) | Médicaments (n=1 à 11 en fonction des endroits) | potentiellement, tous types (POD non précisé dans l'article) | Ad hoc (méthode classique POD/UF) | HI < 1 |
| Pérez-Vázquez <i>et al.</i> (2015) | Mexique, contamination des sols à San Luis Potosi | Métaux (n=4) | Effets non cancérogènes | RfD, US EPA | HI >1 pour les expositions les plus élevées (P90 et maximum) dans les 4 zones étudiées |
| Minigalieva <i>et al.</i> (2017) | Russie | Mélanges binaires et tertiaires en métaux (n=6) | Histologie organes et dosages sanguins | TLVs, ACGIH | HI<1ou >1 (Classes A et B,) HI=1 (Class C). |
| Omrane <i>et al.</i> (2018) | Tunisie, 2 ^{ème} ville la plus grande et capitale économique avec de nombreuses activités industrielles | Métaux lourds (n=6) | Tous types (pas de regroupement) | VTR VLEP (outil MIXIE) | Pas de HI calculé |
| Martin <i>et al.</i> (2017) | Europe, données de contamination des denrées alimentaires (EFSA) et poussières (différentes études) | PBDE (n=8 à 16 en fonction des tranches d'âge ou des sources) | Développement neurologique et neurotoxicité | Ad hoc pour 4 PBDE : BDE-47, 99, 153, 209 (méthode classique POD/UF) et | HI > 1 chez les enfants allaités, les enfants en bas âge (→ 3 ans) et les adultes gros consommateurs de poissons |

| Référence | Pays, contexte | Contaminants (n) | Organe cible ou toxicité considéré | VTR utilisée | Résultats (HI> ou <1) |
|--------------------------------|--|---|------------------------------------|--|--|
| | dans les logements) + charge corporelle estimée à partir de biomonitoring (plusieurs études) | | | approche « read-across » (utilisation de la VTR du congénère le plus proche) | |
| Syberg <i>et al.</i> (2017) | Suède, impacts sur les eaux côtières | PCB, HAP, PBDE | Effets généraux | Concentration limite autorisée ¹⁸ | Somme des HQ divisés par la concentration limite autorisée |
| Genisoglu <i>et al.</i> (2019) | Turquie, contamination de l'eau de boisson (eau potable + eau embouteillée) dans 100 logements | THM (n=4) | Effets cancérogènes | RfD, US EPA Slope factor (SF) | Par inhalation et ingestion, risque compris entre 10 ⁻⁸ et 10 ⁻⁴ : le plus élevé lors des douches par inhalation et par consommation d'eau potable par ingestion |
| Riva <i>et al.</i> (2019) | Italie, contamination des eaux de surface dans le bassin de Milan | Polluants émergents marqueurs d'activités anthropiques (n=47) | Effets écotoxicologiques | PNEC, European Union | HI>1 dans presque toutes les situations de mélange |

¹⁸ Les quantités de contaminants présents dans les poissons et autres fruits de mer destinés à la consommation humaine ne dépassent pas les seuils fixés par la législation communautaire ou autres normes applicables (Directive 2008/56/CE)

Annexe 3 : Exemples d'utilisation de l'approche « point of departure index » (PODI)

| Référence | Pays, contexte | Contaminants et nb de contaminants | Effets retenus | POD retenu | Résultats |
|-----------------------------------|---|---|---|--|--|
| Fox <i>et al.</i> (2004) | USA | Polluants de l'air (n=41) | Nombreuses catégories d'effets : effets sur le poids, irritations oculaire et cutanée, effets sur le développement, endocrinien, gastro-intestinal/hépatiques, cardiovasculaires, hématologiques, immunologiques, mortalité, musculosquelettique, neurologiques, pancréatiques, rénaux, reprotoxiques, respiratoires et dentaires | NOAEC, BMC, LOAEC de la base METDB : 290 doses critiques identifiées Douze catégories d'effets sont documentées par la base METDB dont 10 spécifiquement par rapport aux RfC. | Risque cumulé pour les effets respiratoires et neurologiques, ainsi que les effets gastro-intestinal/hépatiques, rénaux et immunologiques |
| Christiansen <i>et al.</i> (2012) | Etude CONTAMED (financement UE – 7th FP + Danish EPA) | 13 substances chimiques : phtalates (DBP, DEHP), pesticides (vinclozolin, prochloraz, procymidone, linuron, epoxiconazole, p,p'-DDE), filtre UV (OMC, 4-MBC), BPA, parabène (BP) et paracétamol | Effet perturbateur endocrinien (PE) - action œstrogénique et anti-androgénique Différentiation sexuelle chez le rat mâle | NOAEL/LOAEL – distance anogénitale ou rétention du mamelon Rats Wistar (56 jeunes adultes) à GD3 Exposition par gavage oral (GD7 à GD 21 PND1-22) | PODI < 1 |
| Vejdowszky <i>et al.</i> (2019) | Autriche, contamination de l'alimentation | métaux, mycotoxines; composés organiques et inorganiques dont HAP(n=12) | Effets rénaux et neurologiques (CAG de l'EFSA) | BMDL NOAEL LOEL/NOEL | mRPI>1 Risques liés à l'exposition de la population autrichienne <i>via</i> l'alimentation : Pour tous les scénarios pour les effets rénaux Chez l'enfant et les adultes les plus exposés pour les effets neurologiques |
| Sprong <i>et al.</i> , 2020 | Union européenne | 144 pesticides, 49 polluants organiques persistants, 7 additifs alimentaires | Stéatose hépatique (CAG de l'EFSA) | NOAEL/LOAEL | MOE + contributeurs principaux Risque cumulé pour la stéatose hépatique en fonction des scénarios d'exposition. |
| Crépet <i>et al.</i> soumis | France | 32 substances considérées et | Effets neurologiques et effets thyroïdiens | VTR, LOAEL, NOAEL | mRPI>1 + contributeurs principaux |

| Référence | Pays, contexte | Contaminants et nb de contaminants | Effets retenus | POD retenu | Résultats |
|-----------|----------------|--|----------------|------------|---|
| | | regroupé selon l'exposition en 3 mélange | | | Risque cumulé pour les effets thyroïdiens 3 fois plus élevés que pour les effets neurologiques pour Contribution de 4 substances du mélange au risque total pour les 2 effets |

Annexe 4 : Exemples d'utilisation de l'approche « toxic equivalency factors » (TEF) ou « relative potency factors » (RPF)

4.1 Proposition de TEF

| Référence | Contaminants et nb de contaminants [paramètre] | Voie biochimique concernée/ effets retenus | POD retenu | Type de données pour le POD |
|-----------------------------------|--|---|--|--|
| Eadon <i>et al.</i> (1986) | dioxines et furanes, 13 PCDD-PCDF / 2,3,7,8 TCDD [TEF] | Liaison au AhR / mortalité | DL ₅₀ | Etudes expérimentales aiguës chez le cochon d'inde |
| Nisbet <i>et al.</i> (1992) | 17 HAP [TEF] | Liaison au AhR / Cancer (différents types) | relation dose-réponse issue de modélisation mathématique (model two-stage low-dose-linear case) | Etudes expérimentales <i>in vivo</i> (souris, rats) et <i>in vitro</i> Evaluation des TEF et comparaison avec ceux par l'US EPA ¹⁹ à partir de études initiales |
| Ahlborg <i>et al.</i> (1994) | 13 PCB [TEF] | Liaison au AhR / Différents effets, modèles multiples | relation dose-réponse issue de modélisation mathématique (model two-stage low-dose-linear case) ED ₅₀ , LD ₅₀ , ED ₂₅ , ED ₁₂ NOEL, LOEL, Kd | Etudes expérimentales <i>in vivo</i> (rongeurs, ...) Structure-activité + études <i>in vitro</i> (activation AhR, induction de CYP1A1) Synthèse de la littérature et compilation des données |
| van den Berg <i>et al.</i> (1998) | 7 PCDD, 10 PCDF, 12 PCB [WHO ₉₈ TEF] | Liaison au AhR / Différents effets | relation dose-réponse issue de modélisation mathématique (model two-stage low-dose-linear case) ED ₅₀ , LD ₅₀ , Kd | Evaluation des TEF – consensus OMS à partir de nouvelles données expérimentales ou des données existantes études subchroniques chez le vison |
| Haws <i>et al.</i> (2006) | 6 PCDD, 10 PCDF, 12 PCB [REP ₂₀₀₄] | Liaison au AhR / Différents effets | EC ₅₀ , LD ₅₀ , Kd | Mise à jour des données expérimentales de base pour établir les TEF complémentaires à celles utilisées par Van den Berg 1998 |

¹⁹ Chu & Chen (1984) EVALUATION AND ESTIMATION OF POTENTIAL CARCINOGENIC RISKS OF POLYNUCLEAR AROMATIC HYDROCARBONS (PAH). U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/D-89/049 (NTIS PB89221329).

Clement (1988) COMPARATIVE POTENCY APPROACH FOR ESTIMATING THE CANCER RISK ASSOCIATED WITH EXPOSURE TO MIXTURES OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., EPA/600/R-95/108.

| Référence | Contaminants et nb de contaminants [paramètre] | Voie biochimique concernée/ effets retenus | POD retenu | Type de données pour le POD |
|-----------------------------------|--|---|---|--|
| Borgert <i>et al.</i> (2003) | Nombreuses substances avec une activité hormonale [RPF] | activité œstrogénique | LOEC, IC ₅₀ , EC ₂₀ , EC ₅₀ (ER- α/β) | Revue des RPF |
| Castorina <i>et al.</i> (2003) | 11 pesticides organo-phosphorés [RPF] | Inhibition d'AChE / effet neurotoxique | BMD ₁₀ par voie orale | Données de l'US EPA |
| van den Berg <i>et al.</i> (2006) | 7 PCDD, 10 PCDF, 12 PCB [WHO ₂₀₀₅ TEF] | Liaison au AhR / Différents effets, | Différents types d'études sur la dose-réponse (in vivo, in vitro, aigue, chronique, etc.) | Ré-évaluation des TEF à partir de la base de données de Haws (2006) avec de nouveaux critères de pondération/sélection des REP |
| Audebert <i>et al.</i> (2012) | 13 HAP [TEF (nommé Genotoxic equivalent factor (GEF))] | Génotoxicité (test γ H2AX) | Fonction de Hill, EC ₅₀ | <i>in vitro</i> (HepG2, LS-174T) |
| Fournier <i>et al.</i> (2016) | 6 COSV (BBP, BPA, B[a]P, DEP, DEHP, cyperméthrine) [RPF] | Inhibition de la stéroïdogénèse / Effet reprotoxique avec réduction de testostérone | Fonction de Hill, BMD _i | Etudes toxicologiques par voie orale - Rats mâles adultes |
| Liu <i>et al.</i> (2019) | HAP | Génotoxicité (53), Liaison AhR-, stress oxydant (NF- κ B) | AC ₅₀ | Données de la base ToxCast <i>in vitro</i> |

4.2 Application de l'approche TEF

| Référence | Pays | Contaminants et nb de contaminants [paramètre] | Voie biochimique concernée/ effets retenus | POD retenu | Type de données pour le POD | Résultats |
|------------------------------------|--------------------------------------|---|--|---|---|---|
| Boon <i>et al.</i> (2008) | Pays-Bas | 25 pesticides organo-phosphorés, 8 carbamates [RPF] | Inhibition d'AChE / Effet neurotoxique | NOAEL _{aiguë} / BMD10 Toxicité relative à l'acéphate pour les contaminants organo-phosphorés BMD ₁₀ Toxicité relative à l'oxamyl pour les carbamates | JMPR/EPA Etudes chez le rat (cerveau) et chien ainsi que des études humaines | Exposition cumulée - P99,9 % Risque pour les OP pour les enfants uniquement |
| Lemieux <i>et al.</i> (2008) | Canada, Suède, contamination de sols | 24 HAP [RPF] | Génotoxicité (test d'Ames) | Pente de la droite de la relation. Toxicité relative au benzo[a]pyrène] | <i>In vitro</i> (<i>S. typhimurium</i>) | Risque mutagénique mis en évidence avec 2 méthodes sur l'hypothèse d'additivité |
| Jensen <i>et al.</i> (2013) | Danemark | 4 pesticides (epoxiconazole, prochloraz, procymidone et tebuconazole) [RPF] | Reprotoxicité (PE) | BMD Toxicité relative au prochloraz | Rats | Exposition cumulée - consommateurs danois pas de dépassement du seuil pour les 4 contaminants pour les effets endocriniens |
| Kalantari <i>et al.</i> (2013) | Suède, Italie | 6 PCB | Liaison au AhR / Réduction des rétinoïdes hépatiques | BMD, ED ₅₀ , NOEL | Rats | Exposition cumulée distinguant les données suédoises pour les femmes et hommes. Risque pour les femmes inférieur à celui des hommes (MOE de 20 et 69 respectivement (P0,1%) |
| Payne Sturges <i>et al.</i> (2009) | USA | Contaminants organo-phosphorés | inhibition des cholinestérases / effet neurotoxique | BMD ₁₀ Toxicité relative au chlorpyrifos | Rats femelles | Risque pour la population nationale et 2 niveaux de zones américaines (Etat de Californie et Comté de Monterey) distinguant différentes classes d'âge (<6 ans, 6-11 ans, 12-19 ans, ≥20 |

| Référence | Pays | Contaminants et nb de contaminants [paramètre] | Voie biochimique concernée/ effets retenus | POD retenu | Type de données pour le POD | Résultats |
|--------------------------------|---------|--|--|---|--------------------------------------|--|
| | | | | | | Risque le plus élevé pour les enfants de 6-11 ans dans le comté de Monterey (62% - MOE≤1000) |
| Chou <i>et al.</i> (2017) | USA | Particulate ambiantes et HAP | Réponse médiée par AhR, Nrf2 et p53 | EC ₅₀ | <i>In vitro</i> (HTS tox 21 program) | Parmi trois voies de signalisation, celle de AhR est la plus sensible qui soit activée par le HAP. Les enfants sont la population la plus sensible aux risques liés à l'activation de AhR par rapport aux adultes. |
| Pelletier <i>et al.</i> (2019) | France | HAP PCB-DL Phtalates Divers COSV | cancer gastro-intestinal Liaison de l'AhR Activité anti-androgénique Effet reprotoxique avec réduction de testostérone et destruction de neurones | RPF ou TEF | | Risque d'effet reprotoxique associé à une diminution de la testostérone pour les enfants et adultes les plus exposés au mélange B[a]P, DEHP, DEP, BBP ; Risque d'effet liés à la liaison d'AhR pour les enfants les plus exposés au mélange PCB-105, PCB-118 Risque d'effet immunotoxique pour l'exposition des enfants aux mélanges Chlorpyrifos, P[a]P, DEHP, PCB-52, PCB-153, dieldrin, lindane, BDE 47, BDE 99 |
| Genisoglu <i>et al.</i> (2019) | Turquie | THM (n=4) | Effets cancérogènes | RPF convertis en Index chemical equivalent dose (ICED) Maximum likelihood estimate (MLE) of cancer slope factor of the index chemical (BDCM) | | Par inhalation et ingestion, risque compris entre 10 ⁻⁹ et 10 ⁻⁵ : estimation plus faible que par l'approche HI |

| Référence | Pays | Contaminants et nb de contaminants [paramètre] | Voie biochimique concernée/ effets retenus | POD retenu | Type de données pour le POD | Résultats |
|----------------------------|----------|---|---|---|--|--|
| Mitra <i>et al.</i> (2019) | Inde | HAP | Effets cancérogènes | TEF (Tian <i>et al.</i> , 2013) | | Risque écologique évalué |
| Dong <i>et al.</i> (2019) | Mondial | 355 substances organiques et inorganiques présentes dans les poussières intérieures | Agonistes aux récepteurs AhR, AR, Era, PPAR γ , NF κ B1 Antagonistes aux récepteurs AR, Era, PPAR γ , | AC ₅₀ | Toxcast database | Les résultats montrent que les polluants organiques comme les phthalates (e.g., DEHP et DINP), plastifiants (e.g., BADGE et TOCP), retardeurs de flamme (e.g., TBOEP), organoétains (DBTC, et les phénols (e.g., nitro-phénols) contribuent de manière significative aux effets observés dans les tests <i>in vitro</i> sur l'activité du système endocrinien. |
| Suomi <i>et al.</i> (2017) | Inde | 5 métaux lourds (cadmium, plomb, arsenic inorganique, méthylmercure, mercure inorganique) [RPF] | Toxicité rénale et sur le système nerveux central | Néphrotoxicité : BMDL ₁₀ (iAs, Cd, iHg, Pb). Neurotoxicité : NOAEL human (iAs, Cd) BMDL05 human (MeHg) BMDL1 human (Pb) | Etudes humaines et études animales, calcul de RPF pour chaque endpoint | Exposition cumulée et contribution de chacune des substance pour la néphrotoxicité et la neurotoxicité. |
| Bill <i>et al.</i> (2021) | Pays-Bas | 23 substances perfluoroalkylées (PFAS) | Toxicité hépatique | RPF dérivés à partir de la BMD Le composé index retenu est le PFOA | Etudes chez le rat mâle pour une expositions par voie orale entre 42 et 90 jours | Méthode permettant d'évaluer le risque d'atteinte hépatique lié à une exposition orale à des mélanges de PFAS |

Annexe 5 : Mise en consultation publique du rapport d'état des lieux des méthodes existantes

Ce rapport et les conclusions et recommandations, traduites en anglais, ont fait l'objet d'une consultation publique à visée internationale du 7 juin au 19 septembre 2021 inclus.

Les organismes suivants (noms anglais) ont fait parvenir leurs commentaires lors de la phase de consultation :

- Technical University of Denmark (DTU)
- European chemicals agency (ECHA)
- Finnish Food Authority
- Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA) Spanish Council for Scientific Research (CSIC)
- Scientific Committee of Health, Environmental and Emerging Risks (SCHEER)
- State Secretariat for Economic Affairs (SECO), Labour Directorate Section Chemicals and Work (ABCH)

En langue française, les deux documents suivants ont été mis en consultation publique sur le site de l'Agence sur la même période :

1. Le présent rapport d'état des lieux des méthodes existantes pour prendre en compte les mélanges dans le domaine de l'évaluation des risques pour la santé humaine et la construction de valeurs de référence pour des substances chimiques (Rapport 1).
2. Le rapport d'étude de cas mettant en application les recommandations méthodologiques issues du Rapport 1 en vue de proposer une démarche VGAI pour un mélange d'aldéhydes élargi à d'autres substances irritantes présentes dans l'air intérieur (Rapport 2).

Les organismes dont les noms sont précisés ci-dessous ont fait parvenir leurs commentaires sur ce rapport lors de la phase de consultation :

- TERA Environnement
- CERTIFAIR

Annexe 6 : Présentation des positions divergentes et abstentions

Ce rapport d'expertise collective a été validé lors de la réunion du CES « Valeurs sanitaires de référence » du 11 mars 2022. Lors de cette réunion, un expert s'est abstenu lors du vote. Le motif de son abstention est le suivant : l'expert a estimé ne pas être en mesure d'avoir un avis suffisamment éclairé pour valider ces travaux n'ayant pu assister à l'ensemble de la présentation des différents éléments de ces expertises et aux discussions associées lors de la séance du CES VSR du 11 mars.

Annexe 7 : Suivi des actualisations du rapport

| Date | Version | Description de la modification |
|------------|---------|---|
| 07/06/2021 | 01 | Version pour consultation |
| 11/03/2022 | 02 | <p>Version finale</p> <ul style="list-style-type: none"> ➔ 1.2 Ajout des autres travaux de l'Anses sur les mélanges faisant l'objet de l'avis commun ➔ 1.3 Ajout d'un paragraphe pour mentionner la consultation publique. Révision de la figure 1 ➔ 3.1 Ajout de paragraphes pour présenter les éléments clefs des références : EC (2020). Kortenkamp & Faust (2018) ; Martin et al., (2013) ; KEMI (2015, 2021) ➔ 3.2.2 Ajout de paragraphes pour présenter les éléments clefs des références : Boberg et al. (2021) ; EFSA (2021) ; Kortenkamp (2020) ; Fournier et al. (2014b) ➔ 3.2.4 Ajout d'un paragraphe + 1 figure pour présenter les éléments clefs de la référence Zare Jeddi et al., (2021) ➔ 3.3.1. Christiansen ➔ 3.3.1.2 Ajout de paragraphes pour présenter les éléments clefs des références : Boberg et al. (2021) ; Kortenkamp & Koch (2020) ➔ 3.3.1.3 "Modification de l'équation et ajout d'un paragraphe accompagnant l'équation (L) MOEmix ➔ 3.3.1.4 + Annexe 4 "Ajout de paragraphes pour présenter les éléments clefs des référence Suomi et al., (2017), Bill et al (2021) + Ajout d'une description des études dans le tableau annexe 4.2." <p>3.4.1 Mise en forme de la figure 7, suppression d'un paragraphe décrivant les études de Chen et McKone (2001) et Hornung, (1998) l'interaction entre l'exposition aux radiations ionisantes et à des substances chimiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> ➔ 3.4.2 Ajout de paragraphe pour présenter les éléments clefs des références : Bravo et al. (2020) ; Vizcaino et al. (2014) ; Gascon et al., (2014) ; Bravo et al. (2019) ; van Drooge et al. (2018) ; Gari et al. (2018) ➔ 4 Reformulations et compléments apportées à la conclusion ➔ 5 Mise à jour de la bibliographie ➔ Création Annexe 5 : Mise en consultation publique du rapport d'état des lieux des méthodes existantes ➔ Création Annexe 6 : Présentation des positions divergentes et abstentions |

| | | |
|--|--|--|
| | | <ul style="list-style-type: none">→ Création Annexe 7 : Suivi des actualisations du rapport→ Numérotation des annexes |
|--|--|--|

Notes



AGENCE NATIONALE DE SÉCURITÉ SANITAIRE
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
14 rue Pierre et Marie Curie 94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr — @Anses_fr