



Figure 14

Grâce aux modélisations informatiques, on peut optimiser les traitements des parcelles par les produits phytosanitaires, le but étant d'avoir la meilleure efficacité et la moindre contamination de l'environnement.

décision qui permettront, sur la base des données caractéristiques de la parcelle et des informations météo locales, de déclencher le traitement au bon moment, à la bonne dose, uniquement si cela est nécessaire (Figure 14).

4 La toxicologie alimentaire

(Jean-Pierre Cravedi, Sylvie Chevolleau, Cécile Canlet et Laurent Debrauwer)

Les études de toxicologie sont indispensables pour l'évaluation du risque alimentaire, réalisée par des agences publiques comme l'Afssa, ou par l'industrie agroalimentaire. Ces évaluations doivent permettre de déterminer la probabilité pour que le consommateur ne coure aucun danger en absorbant tel ou tel aliment, c'est ce qu'on appelle le risque sanitaire. Il faut identifier le danger potentiel, puis le caractériser. C'est une démarche difficile, longue et complexe dans laquelle la chimie analytique est un allié incontournable, mais elle n'est pas le seul...

4.1. Les défis techniques de la toxicologie alimentaire

Dans une étude de toxicologie alimentaire, la quantification d'une substance n'est pas nécessairement l'étape la plus complexe, c'est en premier lieu l'extraction des composés toxiques. Si l'on prend l'exemple d'un steak grillé, extraire les composés de cet aliment puis repérer les substances toxiques est une tâche bien plus difficile que l'étape de leur analyse, qui ne représente que quelques pourcents du travail de chimie analytique (Figure 15).

Un autre défi est de détecter les substances à des doses de plus en plus faibles. Depuis vingt ans, les techniques analytiques ont considérablement progressé : non seulement elles sont de plus en plus répandues et accessibles aux laboratoires, mais leurs limites de détection ont globalement progressé d'un facteur de 1 000 à 5 000 (Figure 16). Il y a vingt ans, il était impossible de détecter les **dioxines** aux concentrations auxquelles elles se trouvent dans nos aliments ; on sait aujourd'hui les doser et les quantifier, même si les analyses coûtent cher car plus les appareils sont performants, plus ils sont coûteux et exigent du personnel qualifié.

Une autre difficulté s'ajoute : celle de détecter simultanément un grand nombre de composés dans un aliment. En effet, le risque en matière de sécurité sanitaire des aliments ne résulte pas seulement de la présence d'une substance ou d'un petit nombre de substances, mais

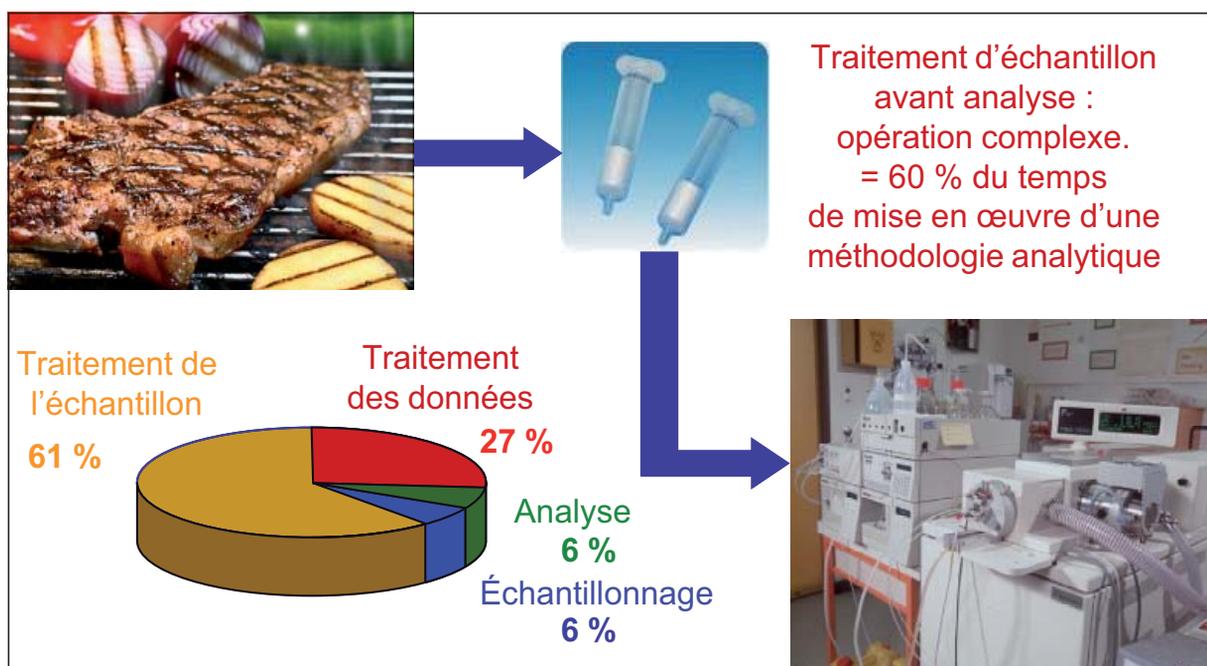


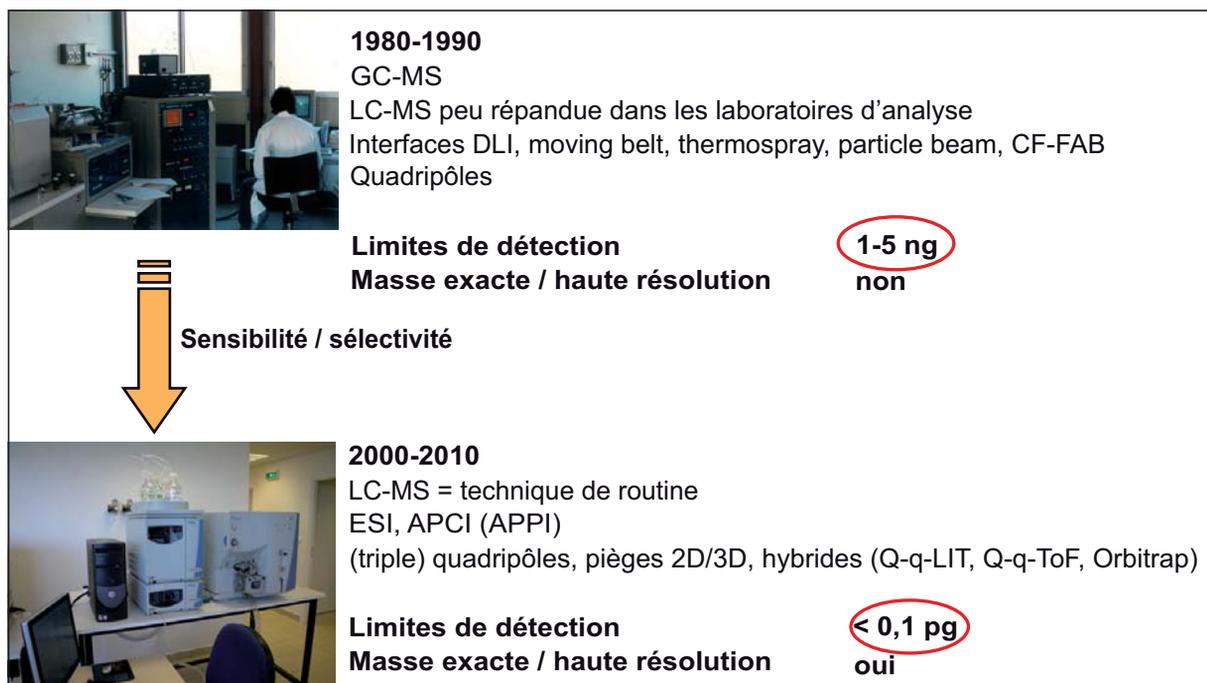
Figure 15

Extraction, identification et analyse de composés à partir d'un steak grillé : un ensemble d'opérations longues à mettre en œuvre.

Figure 16

Le défi des faibles doses : le gain en matière de limites de détection au cours de ces vingt dernières années est considérable.

GC-MS = Gas Chromatography-Mass Spectroscopy ; LC-MS = Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy.



il est associé à des familles de composés extrêmement variés (voir la *Figure 19* du *Chapitre de M.-J. Amiot-Carlin*). Aussi, recherche-t-on aujourd'hui des techniques permettant de doser en même temps plusieurs centaines de composés n'appartenant pas à la même catégorie. Le développement de ces techniques est un vrai défi en matière de toxicologie.

4.2. Toxicologie et biologie : deux disciplines indissociables

Pour illustrer la difficulté de détecter des traces de composés toxiques dans les aliments, prenons l'exemple de l'analyse de l'acrylamide, une molécule néoformée que l'on retrouve notamment dans des aliments frits tels que les frites ou les chips, et qui a des propriétés toxiques très importantes (neurotoxique, reprotoxique, substance probablement cancérigène pour l'homme). Cette molécule est trouvée en concentration extrêmement variable selon les aliments et

présente un risque potentiel élevé pour l'homme.

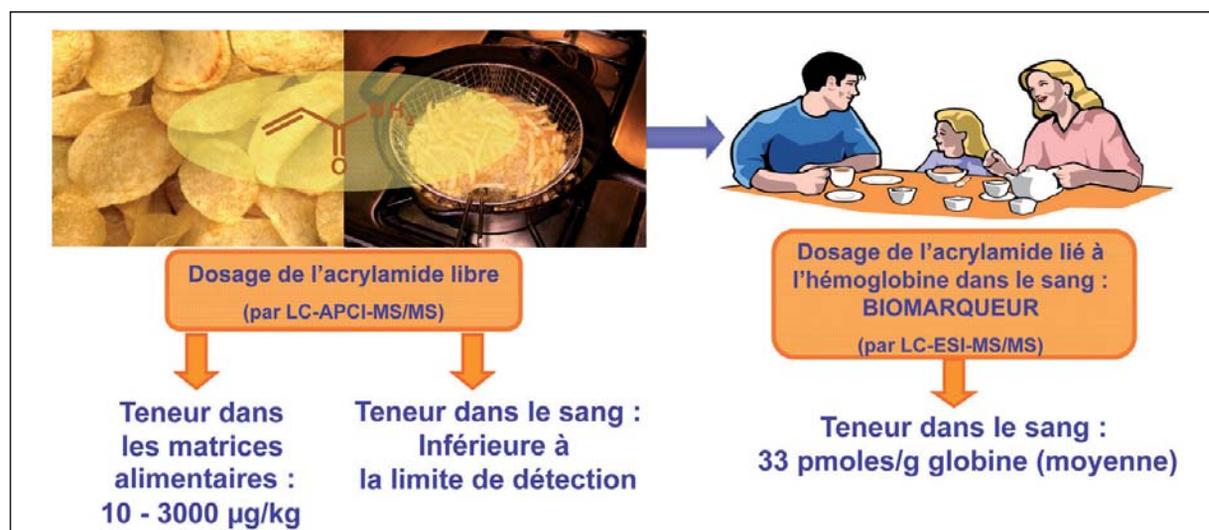
Une des difficultés majeures de l'analyse du risque lié à la présence de l'acrylamide dans l'aliment est qu'on est incapable de le détecter dans le sang. Il faut passer par l'intermédiaire de l'analyse de « **biomarqueurs** » d'exposition (cette notion est développée dans le *Chapitre de M.-J. Amiot-Carlin*), c'est-à-dire qu'on essaye de détecter et de quantifier des composés révélateurs de la présence de l'acrylamide, qui eux perdurent dans l'organisme. En l'occurrence, on sait maintenant que l'acrylamide a la capacité de se fixer à l'hémoglobine contenue dans nos globules rouges, et c'est précisément cette propriété qui est utilisée pour détecter des résidus d'acrylamide chez l'homme (*Figure 17*).

Ainsi, dès qu'on s'intéresse à la toxicologie, la biologie et le développement analytique sont très liés.

Une fois qu'un composé présent dans un aliment a été caractérisé, quantifié et

Figure 17

Le recours aux biomarqueurs est un moyen pour détecter des traces de toxiques alimentaires tels que l'acrylamide, présent dans les frites et les chips. (pmoles = picomoles = 10^{-12} moles).



identifié comme étant potentiellement toxique pour l'homme, il faut ensuite évaluer le risque sanitaire réel pour le consommateur.

4.3. La difficulté d'évaluer un risque sanitaire alimentaire (Gérard Pascal)

Pour évaluer le risque sanitaire d'un composant alimentaire ou d'un aliment, il faut en déterminer la dose journalière admissible (voir l'encart « *La dose journalière admissible* »). Il est donc nécessaire de disposer d'une méthodologie d'évaluation toxicologique dans le domaine de l'alimentation.

4.3.1. Évaluation du risque sanitaire pour un composant alimentaire

La mise au point d'une telle méthodologie fut un véritable défi pour le toxicologue, qui, jusqu'aux années 1950, n'étudiait que la toxicité de composés biologiquement actifs tels que les médicaments ou les produits phyto-

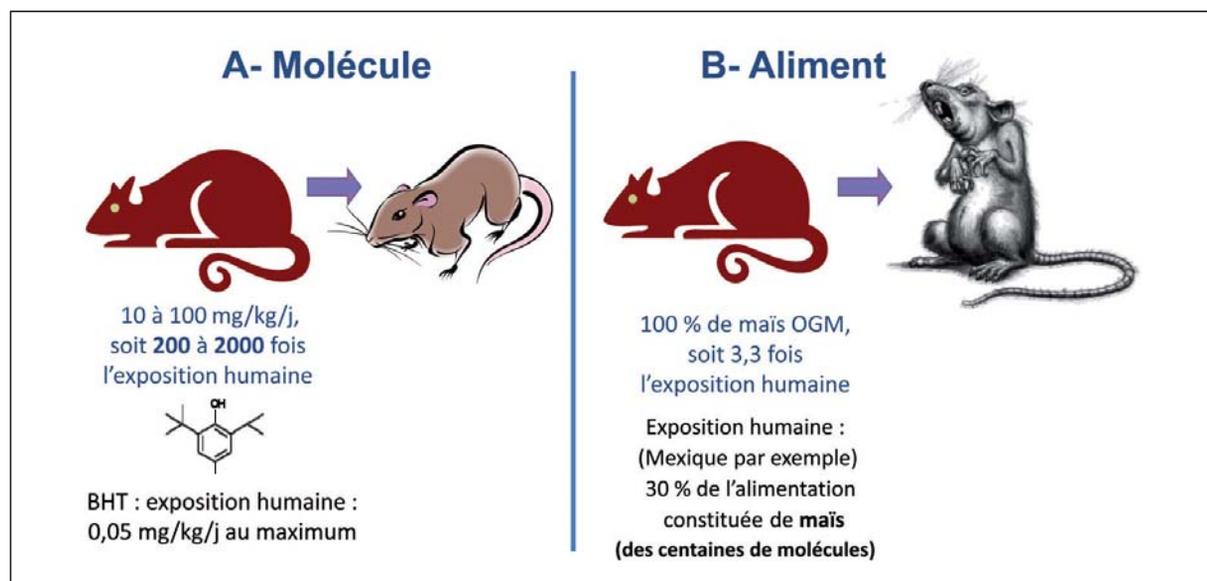
sanitaires (comme nous l'avons vu précédemment avec l'exemple des pesticides, paragraphe 2), car dans le domaine alimentaire, les composés étudiés n'ont pas été conçus pour un effet biologique particulier.

Prenons l'exemple des additifs alimentaires, uniquement conçus pour leur intérêt technologique, et pour lesquels il faut évaluer le risque sanitaire de molécules telles que le BHT (ou hydroxytoluène butylé, *Figure 18*), un additif alimentaire de synthèse utilisé pour lutter contre l'oxydation des matières grasses.

Cet additif a été testé sur des animaux de laboratoire, tels que des rats, auxquels ont été administrées des doses variant de 10 à 100, voire même 300 mg/kg/jour, ce qui représente 200 à 2 000 fois l'exposition humaine maximale. Au bout de 90 jours, voire deux ans, c'est-à-dire les deux tiers de l'espérance de vie moyenne du rat, il est possible de détecter quelques effets considérés comme

Figure 18

Si l'on peut évaluer le risque sanitaire d'un composant alimentaire (le BHT), il n'est en revanche pas évident d'évaluer celui d'un aliment (par exemple un maïs OGM).



délétères, uniquement parce que l'on a forcé la dose (*Figure 18A*).

Cette méthodologie, développée dans les années 1950, a depuis été affinée et permet aujourd'hui d'assurer largement la sécurité du consommateur. Une réglementation a été établie pour le BHT, dont la dose maximale journalière admissible a été évaluée à 0,5 mg/kg/jour, dose qui est généralement bien respectée par les usages industriels, d'après les nombreuses études d'évaluation de l'exposition des consommateurs à cette molécule. Il n'y a pas de démonstration scientifiquement validée d'effets négatifs de l'utilisation d'additifs alimentaires dans le respect de cette réglementation.

4.3.2. Évaluation du risque sanitaire d'un aliment

Qu'en est-il du risque sanitaire d'un aliment ? La méthodologie précédente reste-t-elle applicable ? Il peut paraître étonnant que parmi ce que nous consommons, tout n'ait pas été évalué sous l'angle de la sécurité sanitaire, sauf dans le cas des aliments refusés par la quasi-totalité des consommateurs, à savoir les aliments irradiés. Quelques essais ont été faits sur des produits alimentaires réchauffés ou cuits dans des fours à micro-ondes, mais des millions de fours à micro-ondes ont été mis sur le marché sans qu'aucune étude préalable des risques sanitaires potentiels de cette nouvelle technologie n'ait été effectuée. Aujourd'hui, les adversaires des organismes génétiquement modifiés

(OGM) réclament l'application de l'ensemble de la panoplie des tests toxicologiques, autant pour les aliments que pour les matières premières agricoles à partir desquelles ils sont extraits.

Mais les méthodes de la toxicologie traditionnelle ne peuvent pas vraiment s'appliquer à l'évaluation sanitaire d'un aliment. Par exemple, supposons qu'on veuille évaluer un maïs génétiquement modifié et qu'on essaye de construire un protocole d'expérimentation animale modèle de l'exposition humaine. Prenons l'exemple extrême d'un mexicain dont la ration alimentaire est composée pour une part importante de maïs (30 %). Si pour modéliser on décide de donner 100 % de maïs à des rats, cela ne représente qu'un facteur de sécurité de 3,3 par rapport à l'exposition humaine, comparé aux facteurs de sécurité de 200 à 2 000 pris pour une molécule chimiquement définie telle que nous l'avons vue précédemment dans le cas du BTH. Or, le rat ne pourra pas supporter l'alimentation à base de maïs seul, car il souffrira dans ce cas d'un déséquilibre nutritionnel (*Figure 18B*). Cette expérience ne permettra donc pas de conclure sur la toxicité du maïs OGM. Pourtant, ce qui nous intéresse, c'est de mettre en évidence des effets discrets qui vont se manifester à long terme et qui peuvent avoir une influence certaine sur la santé des consommateurs.

En conclusion, les protocoles de toxicologie classique dont nous disposons aujourd'hui sont mal adaptés aux questions qui nous sont posées :

quels sont les effets des différents types d'aliments ? Quels sont les effets des très faibles doses de contaminants, de polluants en mélange ? Que deviennent les effets discrets quand on les considère sur le long terme ?

Il faut donc imaginer de nouvelles approches, et ce sont la chimie et la physico-chimie qui seront les plus à même d'aider à répondre à ces interrogations.

4.4. L'évaluation des relations dose-réponse : les effets des faibles doses

Les outils pour évaluer les additifs alimentaires sont relativement satisfaisants ; ils le sont moins pour des substances biologiquement actives, et en particulier pour les contaminants.

Si on revient sur les études réalisées avec une forte exposition sur des animaux de laboratoire, on peut se demander si on a le droit d'extrapoler les effets des fortes doses sur l'animal aux faibles doses chez l'homme, et quelle est la relation dose-réponse. En effet, il faut mentionner les nombreuses différences qui existent entre la modélisation expérimentale et la réalité : les groupes de rats sont génétiquement homogènes et l'effectif de ces groupes est au maximum de l'ordre de cinquante ; on est donc assez loin des conditions de l'exposition humaine, caractérisée par un polymorphisme génétique extrêmement important (de grandes variabilités des caractères génétiques entre les individus) et donc des sensibilités très variables

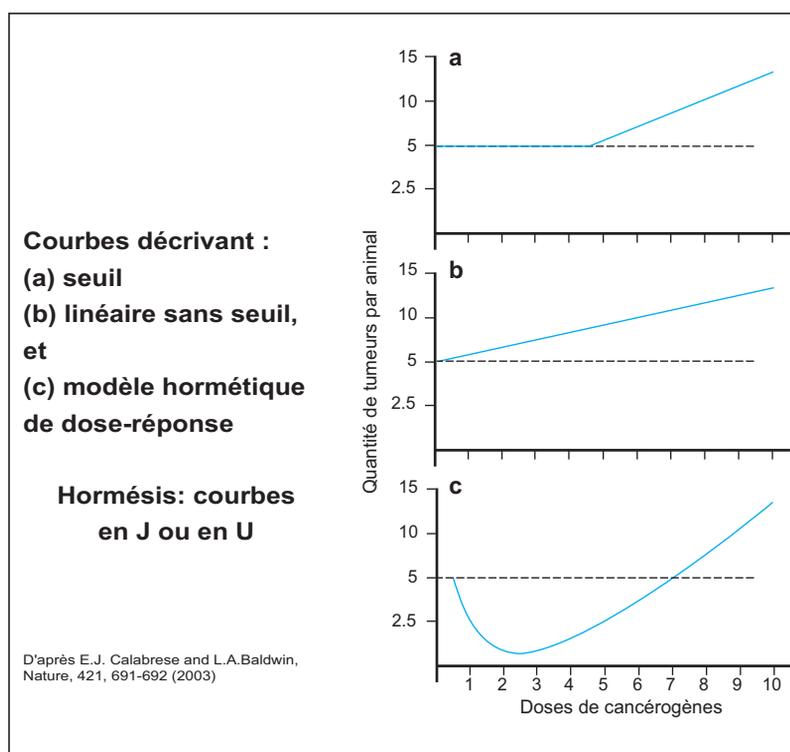
et différentes par rapport à celles des cinquante rats.

Prenons l'exemple des courbes dose-réponse caractérisant l'effet cancérigène de certaines substances : la **Figure 19** étudie la réponse (en nombre de tumeurs développées par animal) en fonction de la dose croissante. Pour des molécules sans effet génotoxique⁴, il y aurait un seuil (une dose) en dessous duquel il n'y a pas d'effet (courbe **a** de la **Figure 19**). Pour les cancérogènes génotoxiques (courbe **b**), l'exposition à une seule molécule pourrait en théorie conduire à un cancer, ce qui est une aberration sur le plan biologique, puisque chaque jour, des dizaines de milliers de

4. Une substance est dite génotoxique quand elle peut compromettre l'intégrité de l'ensemble de nos gènes par action sur l'ADN, pouvant conduire à des mutations, parfois cancéreuses.

Figure 19

Courbes dose-réponse en ce qui concerne l'effet cancérigène de diverses substances. Les courbes en J et U (courbe **c**) caractérisent un mécanisme hormétique, selon lequel certaines doses faibles auraient un effet bénéfique sur l'organisme.

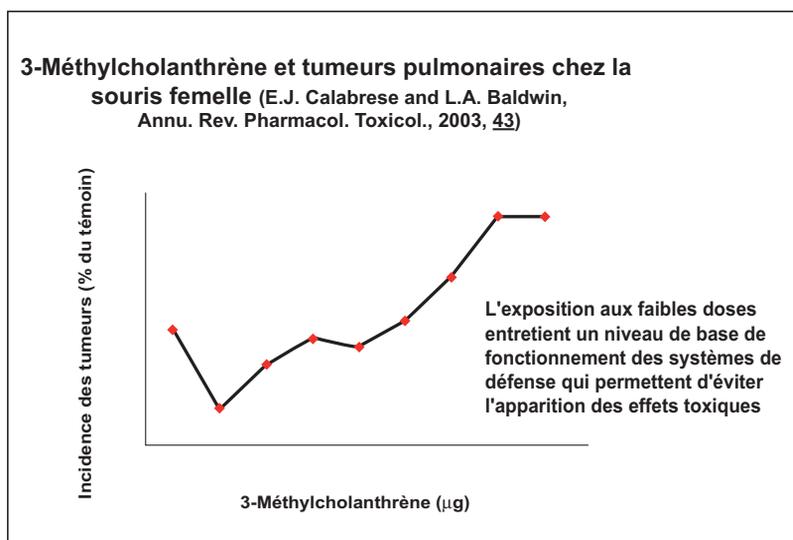


nos cellules mutent, et nous disposons heureusement de systèmes de réparation.

À la fin du XIX^e siècle, on a mis en évidence, pour des produits radioactifs, une relation dose-réponse en forme de J ou de U (courbe **c**), qui traduit le fait que, de temps en temps, l'exposition à de faibles doses a des effets bénéfiques, alors que l'exposition à la même substance à fortes doses a des effets toxiques. Depuis, de nombreuses études ont mis en évidence, pour un faible pourcentage de substances, ce phénomène que l'on appelle « *hormesis* ». Son mécanisme est de plus en plus étudié, et de nombreux résultats ont notamment été observés dans les mitochondries, ces structures présentes dans nos cellules qui assurent la production d'énergie à partir de l'oxygène. Dans ces mitochondries, des oxydations radicalaires peuvent avoir lieu, conduisant à la formation de radicaux libres, considérés comme toxiques. Mais à faibles doses, ces radicaux semblent avoir des effets plutôt bénéfiques !

Figure 20

Effet bénéfique de l'exposition à des faibles doses avec l'exemple d'un cancérigène : le 3-méthylcholanthrène.



Prenons l'exemple d'un cancérigène, le 3-méthylcholanthrène, pour lequel on a expérimentalement mis en évidence ce type de courbe en J. Quelle peut en être l'explication et le mécanisme ? Pour se défendre contre des produits chimiques potentiellement toxiques, nos systèmes de défense sont des systèmes enzymatiques qui doivent être « induits » pour fonctionner : si nous ne sommes pas en permanence exposés à de petites doses de certains produits chimiques, expositions qui assurent leur fonctionnement à un niveau de base, ces systèmes devront être réactivés en cas d'expositions à une forte dose, réduisant par là même la capacité de réaction de l'organisme et ses possibilités de régulation physiologique (Figure 20) et conduisant à l'apparition des effets toxiques.

4.5. Analyse chimique et toxicologie alimentaire

On dispose aujourd'hui de moyens d'analyse extrêmement puissants qui permettent par exemple de mettre en évidence le fait que lorsque nous consommons un pain réalisé avec une farine complète, notre métabolisme (évalué au travers du « métabolome » = ensemble des métabolites de l'organisme) n'est pas le même que lorsque nous consommons du pain blanc. Quant à en tirer des conclusions en termes de risque ou de supériorité d'un pain par rapport à l'autre, il faudrait beaucoup plus de données pour pouvoir conclure. Dans le cadre des

produits chimiques, c'est exactement la même chose.

Aujourd'hui, connaître la signification toxicologique exacte des modifications observées (par exemple du métabolome) en réponse à l'exposition à un composé chimique ou à un constituant alimentaire est un réel défi pour le nutritionniste et le toxicologue.

5 Vers la compréhension des effets alimentaires sur l'organisme

(Jean-Pierre Cravedi, Sylvie Chevolleau, Cécile Canlet et Laurent Debrauwer)

La notion d'exposition est un facteur important dans l'étude du risque alimentaire et les outils de la chimie analytique sont souvent bien adaptés à la mesure des traces d'une multitude de contaminants.

Au-delà du domaine de la toxicologie, certains laboratoires sont aujourd'hui également dotés d'outils d'analyse permettant de mesurer les effets produits par des constituants alimentaires : effet nutritionnel, effet sensoriel...

Ces analyses sont effectuées selon différentes approches possibles, parmi lesquelles on peut citer les approches globales récemment développées, qui sont basées sur la nouvelle science des « omiques » : génomique (étude des gènes), transcriptomique (étude de l'ARN), protéomique (étude des protéines de l'organisme), métabolomique (étude des métabolites : sucres, acides aminés, lipides, etc.).

Une question se pose : Certaines substances sont-elles capables de modifier

de manière mesurable notre **métabolisme** et a-t-on les outils pour appréhender ces effets ?

Certaines recherches s'intéressent aux « empreintes métaboliques », basées sur des « biomarqueurs », qui sont des substances que l'on peut mesurer par analyse d'un tissu, de l'urine, ou du sang, et qui seraient révélatrices du métabolisme qui a lieu dans l'organisme. Ces biomarqueurs peuvent permettre de mesurer, voire de prédire le passage d'une molécule, et les conséquences biologiques et fonctionnelles de ce passage dans l'organisme. La première étape consiste en une analyse chimique. Celle-ci fournit des signaux qui sont analysés par des méthodes statistiques et bio-informatiques (faisant appel à une double compétence en informatique et en biologie) (**Figure 21**).

Pour certains contaminants tels que les perturbateurs endocriniens, il existe une controverse sur la relation entre dose et effet. Des études ont été réalisées pour déterminer si ces substances, à des doses comparables à celles auxquelles l'homme est exposé, sont capables ou non d'avoir un impact sur le métabolisme de certains organes (**Figure 21**). Les effets ont été recherchés non pas sur les souris traitées, mais sur leur descendance. En fonction de la dose qui a été injectée, les biomarqueurs reflétant les voies métaboliques ont permis de distinguer plusieurs groupes et de déterminer les cibles (foie, cerveau)

Crédits photographiques

- Fig 4, 6, 9, 10 et 11 : Afssa

- Fig 8A : Licence CC-BY-SA,
Rude

- Fig 17 : Chips et frites :
Licence CC-BY-SA, Rainer
Zenz