



HAL
open science

Méthodes de construction de valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour les substances chimiques cancérigènes

Jean-Ulrich Mullot, Nathalie Bonvallot, Cécilia Solal, Denis Zmirou

► To cite this version:

Jean-Ulrich Mullot, Nathalie Bonvallot, Cécilia Solal, Denis Zmirou. Méthodes de construction de valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour les substances chimiques cancérigènes. *Environnement, Risques & Santé*, 2006, 5 (3), pp.181-189. <hal-00697542>

HAL Id: hal-00697542

<https://hal.science/hal-00697542v1>

Submitted on 28 Nov 2022

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

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



HAL Authorization

Méthodes de construction de valeurs toxicologiques de référence pour les substances chimiques cancérigènes

JEAN-ULRICH MULLOT¹
NATHALIE BONVALLOT²
CÉCILIA SOLAL^{2,*}
DENIS ZMIROU-NAVIER³

¹ École d'application du service de santé des armées (EASSA),
Îlot Val de Grâce,
1, Place Alphonse Laveran,
75001 Paris cedex 5
<jmullot@imassa.fr>

² Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset),
253, avenue du Général Leclerc,
94701 Maisons-Alfort cedex
<nathalie.bonvallot@afsset.fr>
<cecilia.solal@afsset.fr>

³ Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm),
ERI n°11
Faculté de médecine
9, avenue de la Forêt de Haye,
54505 Vandœuvre-Les-Nancy cedex
<Denis.Zmirou@nancy.inserm.fr>

Tirés à part :
C. Solal

Résumé. Les cancers liés à l'exposition à des substances chimiques présentes dans l'environnement constituent une source croissante de préoccupations. Si le potentiel cancérigène de nombreuses substances chimiques est reconnu, sur le plan quantitatif il existe souvent plusieurs valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour une même substance ou au contraire aucune VTR. Cet état de fait, rendant délicates certaines évaluations quantitatives des risques sanitaires, est principalement lié à l'absence de critères méthodologiques harmonisés entre les organismes élaborant des VTR. En France, faute de méthode de construction reconnue, la construction d'une VTR pour une substance cancérigène n'est pas encadrée techniquement et le choix est guidé par le respect de critères « conventionnels ». Le présent article expose donc les principales méthodes de construction existantes au niveau international dans l'objectif de décrire les points méthodologiques les plus importants lors du choix ou de l'élaboration d'une VTR pour des substances chimiques cancérigènes.

Mots clés : cancérigènes environnementaux ; évaluation risque ; modèle théorique ; valeur toxicologique de référence ; relation dose-effet, médicaments ; substance chimique.

Abstract. Guidelines for derivation of toxicity reference values for carcinogens

The public is becoming increasingly aware of the risks associated with carcinogenic chemicals in the environment. While the carcinogenic potential of many substances is recognized, there may be several different quantitative toxicity reference values for a given chemical, or, on the contrary, none at all. This situation, which makes it difficult to perform accurate quantitative risk assessments, results from the absence of harmonization between international institutions that establish these reference values. Because there is currently no recognized method for developing such values in France, this article reviews the principal published methods for their development. Our goal is to describe the most important methodologic points to be considered in deriving or choosing toxicity reference values for carcinogenic agents.

Key words: carcinogens, environmental; chemicals; dose-response relationship, drugs; models, theoretical; chemicals; risk assessment; toxicological reference values.

Les cancers liés à l'exposition à des substances chimiques présentes dans l'environnement sont une source croissante de préoccupations nationales. En témoignent en France certaines propositions du Plan national Santé-Environnement, du Plan Santé-Travail ou encore du Plan Cancer [1-3]. Le potentiel cancérigène de nombreuses substances chimiques est reconnu qualitativement mais, sur le plan quantitatif, il existe souvent plusieurs valeurs toxicologiques de référence (VTR) pour une même substance ou, au contraire, aucune VTR. Cet état de fait est, en partie, lié à l'absence de critères méthodologiques harmonisés

entre les organismes élaborant des VTR ainsi qu'à des hypothèses différentes d'un organisme à l'autre sur les modes d'action des substances.

Dans la démarche d'évaluation quantitative des risques sanitaires (EQRS), telle que décrite dès 1983 par le *National Research Council* [4, 5], c'est au cours de l'évaluation de la relation dose-réponse que les VTR sont recherchées et utilisées. En effet, les VTR sont des indicateurs synthétiques permettant de faire le lien entre une exposition à une substance et la nature ou l'occur-

rence d'un effet néfaste¹. Ces VTR, spécifiques d'un effet, d'une voie et d'une durée d'exposition, mises en regard avec les niveaux d'exposition de la population étudiée, permettent de juger de l'acceptabilité d'un risque ou d'en évaluer la probabilité de survenue.

En France, faute de méthode reconnue, la construction d'une VTR pour une substance qui n'en dispose pas n'est pas encadrée techniquement et le choix entre plusieurs VTR disponibles est guidé par le respect de critères « conventionnels », parmi lesquels : la mise à jour récente, la notoriété de l'organisme et la cohérence entre les durées et voies d'exposition des protocoles expérimentaux et celles de la population exposée. À qualité scientifique égale, la valeur la plus conservatrice pour la santé est habituellement retenue. Cette analyse simplifiée est habituellement conduite par les évaluateurs de risques, sans discussion sur les hypothèses de construction des VTR proposées.

Le présent article a pour objet de présenter un état des lieux des principales méthodes de construction de VTR pour les substances cancérigènes. Il s'inscrit dans le cadre de travaux préparatoires au pilotage par l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset) d'un groupe de travail pluri-institutionnel, groupe ayant pour objectif l'établissement d'un document méthodologique pour la sélection ou la construction de VTR spécifiques aux effets cancérigènes. Dans ce contexte, cet article n'a pas vocation à discuter chacune des méthodes mais plutôt à réaliser un état des lieux descriptif, mettant en exergue les points méthodologiques cruciaux dans la construction de telles VTR.

Démarche générale de construction des VTR

Les premières étapes sont communes à tous les organismes et tous les types de VTR [6] :

- revue de l'ensemble des données toxicologiques, mécanismes et épidémiologiques pertinentes pour élaborer un « profil toxicologique » ;
- détermination d'un effet critique, c'est-à-dire le premier effet néfaste qui survient lorsqu'on accroît la dose, jugé pertinent chez l'homme pour élaborer la VTR ;
- choix de l'étude pivot, humaine ou animale, c'est-à-dire l'étude (ou le regroupement d'études) qui servira à établir la relation dose-réponse pour l'effet critique retenu ;
- choix d'un scénario de construction de VTR : à seuil ou sans seuil de dose, selon le mécanisme d'action identifié.

L'ensemble des organismes s'accordent à préférer les études épidémiologiques de qualité (*versus* des études chez l'animal) lorsque celles-ci sont disponibles.²

¹ Définition retenue dans le cadre de cet article (absence de définition consensuelle).

² Par rapport aux critères habituels de qualité d'une étude épidémiologique, dans le cas particulier de la construction de VTR, l'exposition doit être documentée, dans la mesure du possible, de manière juste et précise.

Cas des VTR pour les effets à seuil

Pour ces effets, on suppose l'existence d'un seuil de dose en deçà de laquelle la probabilité d'occurrence de l'effet néfaste chez l'homme est très faible (en théorie, cette probabilité est considérée comme nulle). Il est fait l'hypothèse que les mécanismes d'action toxique conduisant à ces effets néfastes surviennent eux-mêmes avec un seuil. Pour cela, une dose critique est établie à partir des données observées. Selon les données disponibles, cette dose peut être [5, 7] :

- une dose maximale sans effet nocif observable (NOAEL ou DSENO³) ;
- une dose minimale pour un effet nocif observable (LOAEL ou DMENO⁴) ;
- une *benchmark dose* (BMD), correspondant à la dose (ou la limite inférieure de l'intervalle de confiance correspondant) produisant l'effet néfaste avec une augmentation de la fréquence ou de la sévérité fixée [8]. Cette dose est obtenue après modélisation des observations expérimentales.

Des ajustements reposant sur des modèles physiologiques peuvent être réalisés, avant ou après la détermination de la dose critique, afin de déterminer une dose équivalente humaine (« ajustements allométriques »). Puis, différents « facteurs d'incertitude » (UF, *uncertainty factor*) sont appliqués pour tenir compte des incertitudes provenant de l'extrapolation de données, le plus souvent observées chez l'animal, à une situation d'exposition réelle chez l'homme. On distingue classiquement cinq facteurs d'incertitude prenant respectivement en compte les incertitudes liées à la variabilité interspèces, la variabilité intraespèce, la durée des expérimentations par rapport à la durée des expositions, l'utilisation d'un LOAEL ou d'une BMD, et la confiance accordée aux études toxicologiques (ou la gravité des effets considérés). Un dernier facteur, dit de modification, peut être appliqué sur la base d'un jugement d'experts pour tenir compte de la qualité générale des données et du niveau de confiance attribuable à la construction de la VTR.

Au final, la VTR résulte de la division de la dose critique retenue, éventuellement modifiée par des considérations physiologiques, par le produit de tout ou partie des facteurs d'incertitude (ce produit constituant la « marge de sécurité »).

Cas des VTR pour les effets sans seuil

Pour ces effets, l'hypothèse est qu'il n'y a pas de seuil de toxicité : toute dose peut produire l'effet toxique avec une probabilité donnée. Aussi l'objectif est-il de disposer d'informations quantitatives permettant de déterminer une dose pour laquelle on estime que cette probabilité de survenue de l'effet est

³ NOAEL = *No Observed Adverse Effect Level* ; DSENO = dose sans effet nocif observé.

⁴ LOAEL = *Lowest Observed Adverse Effect Level* ; DMENO = dose minimale avec effet nocif observé.

« négligeable » ou « acceptable »⁵. Le plus souvent, les effets cancérigènes résultant d'un mécanisme directement génotoxique appartiennent à cette catégorie.

La démarche de construction repose également sur la transformation des doses en leur équivalent chez l'homme lorsqu'elles sont issues de modèles animaux. Comme pour construire une BMD dans le cas des effets à seuil, les données sont ensuite modélisées afin d'interpoler les résultats d'incidence entre les observations expérimentales (domaine des observations). Il existe, pour effectuer cette modélisation, un grand nombre de modèles réalisant un *continuum* entre :

- des modèles purement mathématiques (ou empiriques), reposant sur l'hypothèse statistique qu'à l'échelle de chaque individu l'apparition de l'effet étudié est un événement du type « tout ou rien », ne survenant que si le niveau de tolérance à la substance testée - propre à chaque individu et distribué selon une loi connue - est dépassé (par exemple : modèle de Weibull) ;
- des modèles mécanistes, fondés sur des principes moins empiriques puisque développés à partir d'hypothèses sur le mécanisme d'action de l'effet étudié (par exemple : modèle multi-étape linéarisé, dit LMS ; modèle de Moolgavkar-Venzon-Knudson, dit MVK ou d'expansion clonale à deux étapes).

Les détails mathématiques de ces modèles ainsi que les hypothèses sous-jacentes sont largement disponibles dans la littérature [9-12].

Enfin, les données sont extrapolées en dehors des observations expérimentales vers le domaine des faibles doses (c'est-à-dire correspondant à un risque négligeable). Cette extrapolation peut être réalisée de différentes manières :

- en prolongeant, mathématiquement et sans modification, la courbe résultant de la modélisation des données expérimentales, en dehors du domaine des observations et jusqu'au domaine d'intérêt ;
- en utilisant la courbe résultant de la modélisation pour choisir un point, généralement très proche du domaine des observations (appelé BMD, dose repère ou point de départ), associé à une incidence fixée. Ensuite, ce point peut :
 - soit être prolongé *linéairement* jusqu'à l'origine de la courbe dose-réponse ;
 - soit être divisé par des facteurs d'incertitude, dont le produit constitue la « marge d'exposition », équivalente de la marge de sécurité pour les effets à seuil.

La VTR ainsi construite peut être un excès de risque unitaire, correspondant la plupart du temps à la probabilité supplémentaire qu'à un individu de développer la pathologie étudiée s'il est exposé à une unité de dose de la substance pendant toute sa vie. Avec la dernière méthode (marge d'exposition), la VTR s'exprime sous la forme d'une dose obtenue en divisant la dose repère par la marge d'exposition (dans ce dernier cas, la VTR ne permet donc pas de quantifier la probabilité de survenue de l'effet autour

d'une dose). L'approche par « marge d'exposition » est retenue, par exemple, par Santé Canada ou par l'Autorité européenne de sécurité des aliments.

Méthodes de construction de VTR cancérigènes existant au niveau international et prises de position méthodologiques

Méthodes des organismes proposant des VTR

Méthodes de l'United States Environmental Protection Agency (US EPA)

L'agence américaine pour la protection de l'environnement (US EPA) possède une solide expérience en matière d'élaboration de VTR pour les substances cancérigènes puisque le premier document méthodologique relatif à ce sujet date de 1986. Plusieurs centaines de VTR pour des substances cancérigènes ont été construites et sont accessibles sur la base de donnée IRIS (www.epa.gov/iris/) [13]. Le cadre méthodologique correspondant a été révisé en 1999, et plus récemment en 2003, dans un souci d'intégration des avancées scientifiques relatives à la compréhension des mécanismes de cancérogenèse et de prise en compte des commentaires issus de l'expérience [14-16]. Toutefois, la proposition d'une nouvelle méthode n'entraînant pas systématiquement la révision des VTR déjà existantes, il subsiste dans la base de données IRIS des VTR construites avec des méthodes qui n'ont plus cours à l'US EPA, rendant plus difficile le choix de l'évaluateur de risque en l'absence d'information éclairée.

Dans la méthode adoptée en 1986, les études épidémiologiques ou animales pouvaient servir d'étude pivot pour dériver la VTR, des critères de qualité très sommaires étant listés pour chacun de ces types d'études. Le cancer étant reconnu comme un effet sans seuil et aucun modèle n'étant présenté comme préférable pour l'interpolation des données expérimentales, cette interpolation devait se faire en fonction des informations disponibles (notamment sur le mode d'action). Il était proposé d'employer le modèle LMS ou un modèle *time-to-tumor*⁶ si les informations sur la durée d'apparition des tumeurs étaient disponibles. Par défaut, ce même modèle était ensuite appliqué pour extrapoler la relation dose-réponse vers les très faibles doses (domaine correspondant aux faibles risques pour l'homme). L'ajustement allométrique recommandé reposait sur le rapport des surfaces corporelles entre l'espèce testée et l'homme, la surface corporelle d'une espèce étant considérée comme proportionnelle à son poids moyen porté à la puissance deux tiers. La VTR s'exprimait sous la forme d'un excès de risque unitaire (UR, *unit risk*, ou SF, *slope factor*), et était présentée comme la probabilité supplémentaire, par rapport à un individu non exposé, qu'un individu développe un cancer s'il est exposé pendant sa

⁵ La responsabilité du choix de ce risque « acceptable » incombe généralement au gestionnaire des risques sanitaires (indépendance des démarches d'évaluation et de gestion des risques).

⁶ Classe particulière de modèles prenant en compte le délai de survenue des tumeurs.

vie entière à une unité de dose de la substance étudiée⁷ (cette VTR est donc exprimée en inverse de dose ou de concentration). En pratique, cette méthode a été largement appliquée pendant plus de dix ans par l'US EPA et d'autres organismes, majoritairement en utilisant le modèle LMS et plus précisément la limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 % d'un terme mathématique présent dans ce modèle (q_1^*). Au final, l'application de ce modèle conduit à une relation simple :

$$UR = SF = q_1^*$$

La méthode présentée pour commentaires en 1996 et adoptée en 1999 est considérablement plus détaillée [14, 17, 18]. De nombreuses considérations prises par défaut de connaissances scientifiques, mais explicites dans le document de 1986, sont affinées en fonction des connaissances disponibles et de l'expérience pratique acquise en dix ans de construction de VTR.

Dans cette méthode, une place centrale est accordée au mode d'action cancérigène. De nombreux choix méthodologiques dans l'élaboration de la relation dose-réponse sont conditionnés par ce mode d'action et des critères pour apprécier la pertinence chez l'homme d'un mode d'action mis en évidence chez l'animal sont proposés. À l'inverse de la précédente méthode, l'étape d'interpolation des données expérimentales et celle d'extrapolation vers les faibles doses sont clairement séparées. En effet, aucun modèle n'étant systématiquement préférable aux autres pour l'interpolation des données expérimentales, un problème de divergence « mathématique » entre les modèles pour les faibles doses se pose et peut conduire à des différences de plusieurs ordres de grandeur au (faible) niveau de risque retenu au final.

Pour l'interpolation des données expérimentales, l'US EPA n'a pas arrêté définitivement un choix de modèle et en teste habituellement plusieurs. La compréhension et/ou la modélisation des mécanismes cancérigènes étant généralement insuffisante, le choix du modèle finalement retenu repose sur la qualité de l'ajustement aux données expérimentales plutôt que sur sa plausibilité biologique. Il s'avère en pratique que ce critère ne remet pas en cause l'utilisation privilégiée du modèle LMS, assez robuste. Ce modèle permet de choisir le point de départ de l'extrapolation aux faibles doses, c'est-à-dire un point de la courbe dose-réponse modélisée, appartenant (ou peu éloigné de) au domaine des observations expérimentales pour conserver une certaine confiance dans sa pertinence. Pour l'extrapolation aux faibles doses, l'application d'un modèle linéaire à partir de ce point de départ n'est pas systématique. En effet, pour certains modes d'action (cancérigènes n'agissant pas directement sur l'ADN) et/ou si les données expérimentales l'indiquent, une approche par marge d'exposition peut être retenue (dans ce cas, il appartient au gestionnaire de risques de définir une marge d'exposition de référence). Si aucune donnée n'oriente vers cette hypothèse non linéaire, ou en cas de doute, l'approche linéaire, réputée plus protectrice pour la santé publique, est utilisée. Dans ce cas, il s'agit d'une droite entre le point de départ retenu sur la

courbe dose-réponse modélisée et l'ordonnée à l'origine. Le point de départ habituellement utilisé pour l'approche linéaire et non linéaire correspond à la limite inférieure de l'intervalle de confiance de la dose produisant 10 % d'augmentation de l'incidence tumorale estimée par le modèle (LED10⁸).

L'ajustement allométrique par défaut tient compte, pour la voie orale, de la surface corporelle (puissance trois quarts du rapport des poids des espèces) et, pour la voie respiratoire, d'un modèle plus complexe prenant en compte la réactivité des espèces chimiques [19].

Les exigences de cette méthode, ainsi que la diminution du nombre de VTR développées depuis 1999, illustrent qu'à partir de cette date ce développement ne pouvait se faire sans une compréhension minimale du mode d'action d'une substance.

En 2003, l'US EPA a proposé pour commentaires une troisième méthode de construction de VTR pour les substances cancérigènes, accompagnée d'un document traitant de la prise en compte d'une éventuelle hypersensibilité aux substances cancérigènes si l'exposition se produit pendant les premières années de la vie [15, 16]. Ces deux documents sont officiellement entrés en vigueur en 2005 [20, 21]. Les principales différences avec la méthode précédente [15, 18, 19] sont :

- le renforcement de l'utilisation des données toxicocinétiques, toxicodynamiques et relatives au mode d'action pour réduire les incertitudes ;
- la clarification des conditions permettant le recours aux hypothèses par défaut, cohérentes avec d'autres méthodes et principes ;
- la prise en compte des susceptibilités individuelles liées à l'âge, au mode de vie, ou génétiques avec une préoccupation particulière pour les enfants ;
- le rapprochement des méthodes de construction de VTR pour les effets cancérigènes et pour les autres effets toxiques. En effet, si les données expérimentales supportent l'idée d'un mode d'action à seuil pour une substance cancérigène, il est prescrit d'appliquer sans changement l'une des méthodes en vigueur à l'US EPA, jusque-là réservées à la construction de VTR pour les effets toxiques non cancérigènes (à seuil).

Méthode de la California Environmental Protection Agency (Cal-EPA)

Depuis 1992, l'agence californienne pour la protection de l'environnement utilise une méthode de construction de VTR pour les substances cancérigènes, notamment pour l'élaboration de valeurs limites pour la protection de la santé publique dans l'eau potable (programme « Proposition 65 ») et dans l'air [22-25]. La méthode proposée par la Cal-EPA en 1992 repose sur l'application, par défaut, des règles suivantes :

- la courbe dose-réponse utilisée est extraite de la base de données développée par Gold *et al.* pour regrouper les résultats d'études de cancérogenèse réalisées chez l'animal ;
- les données correspondant à la localisation tumorale dont l'incidence est la plus élevée, chez l'espèce animale (et le sexe) la plus sensible, sont utilisées ;

⁷ Il est reconnu dès 1986 que l'évaluation quantitative du nombre de cancers prévisibles chez l'homme, ainsi réalisée, peut être très incertaine.

⁸ *Lowest Estimated Dose* : correspondant à une BMD.

– le modèle LMS est systématiquement utilisé pour l'interpolation et l'extrapolation des données expérimentales aux faibles doses. La limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 % du facteur q_1 de ce modèle (q_1^+) est retenue pour exprimer la VTR (appelée *cancer potency factor*) ;

– l'ajustement allométrique entre espèces est réalisé sur la base du rapport de leurs surfaces corporelles (rapport des poids moyens à la puissance deux tiers) ;

– la dose de toxique au site des tumeurs est proportionnelle à la dose administrée (pas d'utilisation de modèles toxicocinétiques) ;

– le risque de cancer est proportionnel au cube de l'âge d'une espèce animale. Cela permet d'utiliser les données d'incidence tumorale issues d'études sur une durée inférieure à la vie entière des animaux d'expérimentation.

Initialement, cette méthode de construction était donc très comparable à celle proposée par l'US EPA en 1986, avec cependant une sélection des études pivots plus « automatique » et non consécutive à une revue critique de la littérature. Par la suite, la méthode a été modifiée pour permettre l'intégration de VTR calculées par d'autres organismes, l'utilisation d'autres modèles d'interpolation et le choix d'études pivots, humaines ou animales, sur la base d'une revue bibliographique plus exhaustive [22]. Au final, l'ensemble des VTR actuellement retenues par la Cal-EPA constitue donc un groupe hétérogène, la méthode de construction évoluant au fur et à mesure des besoins et des pratiques d'autres organismes (notamment l'US EPA) sans que des documents méthodologiques récapitulatifs soient régulièrement proposés.

Méthode de Santé Canada

En 1996, puis en 2004, Santé Canada a proposé deux listes de VTR pour des substances toxiques, dont des substances cancérigènes, reposant sur une méthode de construction inchangée entre ces deux dates [26, 27]. Ces listes sont présentées comme pouvant servir à élaborer des valeurs sanitaires de référence pour l'évaluation de la qualité de divers milieux de l'environnement. La méthode retenue par Santé Canada pour construire les VTR des substances cancérigènes s'apparente à une méthode « à seuil », même si cet organisme postule que « () Dans le cas des effets cancérigènes pour lesquels des données déterminantes indiquent que le mode d'action consiste en une interaction directe avec le matériel génétique, on considère que toute exposition comporte un risque pour la santé humaine. » Les VTR proposées sont :

– la dose tumorigène 0,05 ($DT_{0,05}$) : dose totale qui induit une augmentation de 5 % de l'incidence des tumeurs considérées attribuables à l'exposition, ou des décès dus à de telles tumeurs, d'après des études épidémiologiques ou animales ;

– la concentration tumorigène 0,05 ($CT_{0,05}$) : équivalent pour les effets cancérigènes par voie respiratoire.

Différents modèles, parmi ceux déjà cités, sont utilisés pour identifier ces doses. Lorsque des données toxicocinétiques sont disponibles, elles sont utilisées pour le calcul d'une dose équivalente humaine. Enfin, selon Santé Canada : « Divisées par des facteurs appropriés pour établir une marge de sécurité, la $DT_{0,05}$ ou la $CT_{0,05}$ peuvent servir de points de référence pour juger une

dose donnée quant à la cancérigénité potentielle. » Cet organisme élabore depuis 1996 une méthode pour déterminer ces marges de sécurité appropriées (que d'autres organismes appellent marge d'exposition dans le cas des effets cancérigènes). Il postule provisoirement que la division des $DT_{0,05}$ ou $CT_{0,05}$ par 5000 et 50000 « assure un niveau de risque similaire à celui considéré comme essentiellement négligeable par divers organismes (10^{-5} à 10^{-6}) ».

Historiquement, Santé Canada fut l'un des premiers organismes à proposer une démarche de construction de VTR cancérigènes semblable à la démarche habituellement retenue pour des effets toxiques à seuil. Cependant, et peut-être en raison de l'absence de clarification sur la manière exacte de déterminer les marges de sécurité appropriées, la pratique diffère parfois de la théorie proposée. Ainsi en 2005, dans un document traitant de la fixation d'une valeur guide dans l'eau potable pour le trichloréthylène, l'évaluation des risques cancérigènes est réalisée en utilisant un modèle LMS et un calcul de risque unitaire [28]. La dose associée à un risque 10^{-6} de cancer selon cette méthode permet de calculer la valeur guide pour le risque cancérigène. Pourtant, une $DT_{0,05}$ a été proposée pour cette substance dans les documents méthodologiques de 1996 sur la base de la même étude pivot. À l'inverse, dans le rapport d'évaluation sur l'acrylonitrile, c'est bien le raisonnement fondé sur l'analyse du rapport entre les expositions estimées et la $CT_{0,05}$ ou $DT_{0,05}$ qui est utilisé pour apprécier le risque cancérigène [29].

Il semblerait donc que le couple $CT_{0,05}/DT_{0,05}$ permette avant tout des évaluations semi-quantitatives des risques cancérigènes (dans le but de déterminer des priorités d'action), tandis que dans le cas de la fixation de valeurs limites dans un milieu, les méthodes utilisant des excès de risque unitaire et fournissant des résultats quantitatifs plus facilement exploitables sont retenues.

Méthode du Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM)

En 1993, l'Institut national hollandais pour la santé publique et l'environnement a développé une méthode de construction de VTR pour la fixation de valeurs limites admissibles en substances chimiques dans l'air [30]. En 1997, la même méthode a également été appliquée pour fixer des valeurs limites dans les sols. Enfin, toutes ces VTR ont été réévaluées en 2001 selon la même méthode [31, 32].

La méthode proposée distingue le cas des substances cancérigènes génotoxiques (approche sans seuil) des substances cancérigènes non génotoxiques (approche à seuil). Dans le cas de l'approche sans seuil, la VTR servant à dériver les valeurs limites admissibles (10^{-4}) est l'excès de risque de cancer estimé chez un individu exposé pendant la vie entière, calculé à partir de données épidémiologiques ou animales si des données humaines ne sont pas disponibles. La méthode du RIVM se distingue de celles que proposent d'autres organismes car elle ne repose pas sur un modèle mathématique élaboré pour l'interpolation ou l'extrapolation des données expérimentales d'incidence tumorale. En effet, le RIVM considère que pour les faibles doses (c'est-à-dire les doses éloignées des doses expérimentales), les résultats obtenus par extrapolation sont très dépendants des modèles proposés et des variations expérimentales, même faibles. À l'exception de

très rares cas (modèles biologiques pertinents et validés, comme le modèle MVK par exemple, à utiliser si les données d'entrée sont disponibles), le choix du modèle le plus pertinent est donc considéré comme arbitraire et non fondé sur une compréhension des mécanismes de cancérogenèse. La méthode proposée par le RIVM repose donc sur une simple extrapolation linéaire entre l'origine de la relation dose-réponse et la première dose pour laquelle une augmentation statistiquement significative de l'incidence tumorale est constatée (LOAEL). La pente de cette droite, corrigée de l'incidence des tumeurs observées dans le groupe témoin, et après ajustement allométrique entre espèces, représente l'excès de risque unitaire de cancer aux faibles doses chez l'homme. L'ajustement allométrique est réalisé sur la base du rapport des poids moyens entre l'espèce testée et l'homme pour les expositions par voie orale et sur la base du rapport des débits respiratoires moyens pour les expositions par voie respiratoire. En cas d'exposition sur une durée inférieure à la durée de vie moyenne de l'animal, les incidences tumorales observées sont corrigées au moyen d'une fonction linéaire du temps (et non par une fonction au cube comme celle qu'utilise par exemple la Cal-EPA).

Méthode de l'Organisation mondiale de la santé (OMS)

Par l'intermédiaire d'organismes qui lui sont rattachés, l'OMS élabore des valeurs limites pour les substances toxiques présentes dans l'air ou l'eau à des fins de protection de la santé publique [33, 34]. Pour l'élaboration de ces valeurs limites, deux documents guides traitent des méthodes de construction de VTR utilisables au sein de l'OMS [5, 35].

L'OMS partage la position d'une majorité d'organismes sur la séparation des méthodes de construction pour les cancérogènes mutagènes et génotoxiques (effet sans seuil) et pour les cancérogènes non génotoxiques (effet à seuil). Pour les cancérogènes génotoxiques, faute de consensus définitif sur une méthode optimale de construction de VTR, toutes les approches utilisées en pratique par d'autres organismes sont acceptées. Les VTR proposées par l'OMS ne sont donc pas construites selon une méthode homogène, celle-ci évoluant en fonction des pratiques considérées comme les plus pertinentes au moment de leur élaboration.

Méthode du National Health and Medical Research Council (NHMRC)

Le Conseil australien pour la recherche médicale et la santé publique a publié en 1999 une méthode d'élaboration de VTR pour des substances cancérogènes à des fins d'évaluation des risques associés à la présence de toxiques chimiques dans les sols [36]. Cette méthode a été élaborée par un groupe de travail *ad hoc* entre 1995 et 1999. La méthode repose sur une approche identique pour les substances cancérogènes génotoxiques et non génotoxiques, fondée sur l'application de facteurs d'incertitude à une dose repère. Le NHMRC justifie ce choix pour plusieurs raisons :

- la volonté de proposer une méthode unique pour tous les effets toxiques afin que l'expression finale des risques puisse se faire dans les mêmes unités ;
- la linéarité de l'effet cancérogène aux faibles doses est considérée comme un choix non exclusivement scientifique, partiellement démenti par des observations expérimentales ;

- cette méthode ne requiert pas le choix d'un risque « acceptable » ;
- les excès de risque unitaire proposés par d'autres organismes sont jugés trop conservateurs, incertains et ils donnent une fausse impression de précision ;
- cette méthode est reproductible et peu sensible au modèle retenu.

Le point de départ de l'extrapolation aux faibles doses est la BMD produisant une augmentation de 5 % de l'incidence des cancers. En pratique, tous les modèles disponibles et s'ajustant correctement aux données observées peuvent être retenus, la moyenne des BMD₅ étant finalement utilisée comme dose repère. À la différence d'autres organismes, le NHMRC recommande l'utilisation de la tendance centrale de la BMD et non de la borne inférieure de l'intervalle de confiance à 95 %. Enfin, la VTR est construite en divisant cette BMD₅ par des facteurs d'incertitude prenant en compte la variabilité interspécies (1 à 10), la variabilité intra-espèce (1 à 10), l'adéquation des données disponibles (1 à 10) et la « sévérité⁹ » de l'effet cancérogène (1 à 50). Au final, le produit de ces facteurs est compris entre 1 et 50000, mais des modèles toxicocinétiques et toxicodynamiques peuvent être utilisés pour réduire ces incertitudes.

En pratique, et à notre connaissance, seule une valeur-guide dans les sols pour le benzo(a)pyrène a été élaborée selon cette méthode [37]. En outre, cette valeur a été proposée par l'un des membres du groupe de travail et n'engage donc pas la responsabilité du NHMRC.

Prises de position d'organismes sur des points méthodologiques

European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC)

L'ECETOC s'est prononcé en 2002 sur l'utilisation de la T25¹⁰ à des fins d'évaluation des risques pour les substances cancérogènes sans seuil [38]. La T25 est déterminée à partir de la relation dose-réponse ne nécessitant pas de modélisation compliquée mais n'utilisant pas toute l'information disponible (interpolation linéaire entre les deux points expérimentaux les plus proches de 25 % d'effet). L'introduction de cet indicateur dans la réglementation européenne a été proposée pour moduler les concentrations limites admissibles dans les préparations mises sur le marché en fonction de leur potentiel cancérogène [39].

Constatant que cet indicateur avait pu être dérivé de son usage initial et être utilisé pour des EQRS [40], l'ECETOC a adopté en 2002 la position suivante : la T25 est un indicateur pertinent (parmi d'autres) pour comparer le potentiel cancérogène de différentes substances, mais il ne doit pas servir de point

⁹ Selon cet organisme, la sévérité est une combinaison de la malignité de la tumeur, de la criticité de l'organe touché et de la génotoxicité de l'agent chimique. Elle est déterminée à partir d'un arbre décisionnel explicité dans le document.

¹⁰ La T25 est la dose moyenne d'une substance cancérogène qui produirait une augmentation de 25 % de l'incidence des tumeurs chez des animaux exposés pendant leur vie entière (par rapport à des animaux non exposés).

de départ pour l'extrapolation aux faibles doses des risques de cancer chez l'homme.

Bureau européen des substances chimiques (European Chemicals Bureau, ECB)

Le Bureau européen des substances chimiques est notamment chargé de coordonner les évaluations européennes de risques pour les substances nouvelles, les substances existantes et les biocides. Ces évaluations donnent lieu à la publication de rapports détaillés (*Risk Assessment Reports*), dont la rédaction est encadrée par un document-guide méthodologique [41]. Ce document-guide est peu détaillé sur la question du choix des VTR à utiliser ; il prévoit seulement que ces valeurs puissent être établies selon que les substances évaluées sont génotoxiques (approche sans seuil) ou non génotoxiques (approche à seuil). Il est également prévu que les calculs utiles à ces évaluations de risque soient réalisés par le logiciel EUSES [42, 43].

Dans ce logiciel, et dans le cas de l'approche sans seuil, deux méthodes sont retenues en pratique : le calcul d'un excès de risque unitaire, ou le calcul d'une marge d'exposition comparée à une marge d'exposition de référence. Les deux méthodes utilisent le même point de départ : soit une BMD associée à une augmentation de 5 % d'incidence tumorale (BMD₅), soit une T25. Un facteur d'ajustement allométrique est appliqué (par défaut sur la base du rapport des surfaces corporelles entre espèces) afin de transformer ce point de départ en une dose équivalente chez l'homme. L'excès de risque unitaire est calculé comme la pente de la droite reliant ce point de départ à l'ordonnée à l'origine. Les valeurs entrées par défaut dans le logiciel sont telles que, pour un même point de départ expérimental, la conclusion sur l'acceptabilité du risque sera identique, que le calcul ait été effectué par la méthode à seuil ou sans seuil.

Cependant les indications fournies dans le document-guide et les capacités de calcul du logiciel EUSES sont très insuffisantes pour construire complètement une VTR pour une substance cancérigène à partir de données brutes expérimentales. En pratique, les valeurs de référence utilisées dans les rapports d'évaluation européens pour les effets cancérigènes sont donc construites sans homogénéité d'un rapport à l'autre.

Organismes du Royaume-Uni

Divers organismes ou comités scientifiques dépendant de l'agence anglaise des aliments ou réalisant des évaluations de risque pour le compte des ministères de l'Environnement et de la Santé ont publié des documents méthodologiques exposant la position du Royaume-Uni en matière d'évaluation des risques pour les substances cancérigènes [44, 45] :

- pour les substances cancérigènes non génotoxiques, la méthode habituellement retenue pour les autres effets toxiques peut être appliquée ;
- pour les substances génotoxiques, il est reconnu qu'il n'est pas possible de démontrer l'existence d'un seuil aux faibles doses. Cependant, les pratiques consistant à utiliser les données expérimentales pour calculer un excès de risque de cancer à faible dose ne sont pas utilisées par le gouvernement du Royaume-Uni qui les juge inappropriées, quel que soit le modèle utilisé.

Face à cette « impasse » selon le Royaume-Uni, certains des organismes anglais proposent des alternatives comme la réduction de l'exposition à des niveaux aussi faibles que possible (principe *As Low As Reasonably Achievable* – ALARA) ou le classement des substances en fonction de leur potentiel cancérigène et des expositions (calcul d'une marge d'exposition, sans fournir de marge d'exposition de référence). Si ces alternatives autorisent des prises de décision pour la gestion des risques, aucune d'entre elles ne permet de réaliser une EQRS pour une substance cancérigène génotoxique.

European Food and Safety Agency (EFSA)

Fin 2004, un comité scientifique de l'Autorité européenne de sécurité des aliments a publié, pour commentaires, un avis sur l'évaluation des risques associés à l'exposition alimentaire à des substances cancérigènes génotoxiques [46]. Cet avis fait suite à une volonté de l'agence de gérer, le plus quantitativement possible, les risques associés à ces substances alors que le seul éclairage scientifique jusqu'alors était « d'appliquer le principe ALARA ».

Dans cet avis, définitivement adopté en 2005, il est admis par défaut qu'une exposition à des substances cancérigènes génotoxiques engendre un risque de survenue de cancer quelle que soit la dose (absence de seuil), mais il est également jugé que les modèles permettant habituellement le calcul de cet excès de risque sont trop éloignés de la réalité biologique.

Il est donc proposé une approche par calcul de marge d'exposition. Le point de départ de ce calcul est soit la limite inférieure de l'intervalle de confiance à 95 % de la BMD associée à une augmentation de 10 % d'effet, soit la T25 si le calcul de la BMD n'est pas possible. Le calcul de la marge d'exposition à partir de ce point est présenté comme une méthode permettant effectivement de hiérarchiser les risques entre eux et il est rappelé que seul le gestionnaire peut décider de l'acceptabilité du risque. Toutefois, et à des fins d'éclairage de la décision du gestionnaire, le comité scientifique propose une marge d'exposition de référence intégrant des facteurs prenant en compte les différences interspèces (10), intra-espèce (10), la nature de l'effet cancérigène (10), le fait que la BMD ne soit pas une dose sans effet (10) et l'utilisation éventuelle de la T25 (2,5). Au final, une marge d'exposition de référence de 10000 (25000 si la T25 est utilisée) est proposée comme seuil pour considérer qu'une priorité d'action est « faible » (et non qu'un risque est négligeable).

Cette prise de position européenne, proche des méthodes de Santé Canada, du NHMRC et des prises de position de l'ECETOC, est assez explicite. Toutefois, elle semble plutôt présentée comme une méthode pour hiérarchiser des risques et définir des priorités de gestion, et non pour réaliser une EQRS.

Conclusion

Cette revue bibliographique non exhaustive des méthodes de construction et des prises de position de différents organismes illustre un fait souligné en introduction : sur de nombreux points critiques (existence ou non d'un seuil, extrapolation aux faibles

doses, transposition entre espèces, etc.) il n'y a ni consensus scientifique, ni décision harmonisée pour élaborer des VTR pour les effets cancérigènes des substances chimiques. Par suite, même construites avec des données d'entrée identiques, les VTR proposées par ces organismes sont nécessairement différentes les unes des autres. Selon notre interprétation, le choix de l'une

d'entre elles pour une application particulière devrait pouvoir considérer ces différences méthodologiques au même titre que les critères conventionnels habituellement retenus. C'est précisément l'objectif du groupe de travail mentionné précédemment que de fournir les éléments méthodologiques permettant cette prise en compte. ■

Références

1. Ministère de la Santé et de la Protection sociale, Ministère de l'Écologie et du Développement durable, Ministère de l'Emploi, du Travail et de la Cohésion sociale, Ministère délégué à la Recherche. *Plan national Santé-Environnement 2004-2008*. Paris : éditions SKOM.
Disponible en ligne sur les sites Internet des ministères chargés de la Santé, de l'Environnement et du Travail.
2. Ministère de l'Emploi, du Travail et de la Cohésion sociale. *Plan Santé au Travail 2005-2009*. 2005.
Accessible en ligne à l'adresse Internet : www.travail.gouv.fr
3. Mission interministérielle pour la lutte contre le cancer. *Plan Cancer 2003-2007*.
Accessible en ligne à l'adresse : www.plancancer.fr
4. National Research Council. *Risk Assessment in the Federal Government : Managing the Process*. Washington (DC) : National Academies Press, 1983.
5. International programme on chemical safety. *Environmental Health Criteria 210 : Principles for the assessment of risks to human health from exposure to chemicals*. Geneva (Switzerland) : World Health Organization (WHO), International Programme on Chemical Safety, 1999.
6. Bonvallet N, Dor F. *Valeurs toxicologiques de référence : méthodes d'élaboration*. Saint-Maurice (France) : Institut de Veille Sanitaire (InVS), Département Santé Environnement, Unité Évaluation des risques sanitaires, 2002.
7. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *A review of the reference dose and reference concentration processes*. Washington (DC) : US EPA, Risk Assessment Forum, 2002.
8. Crump KS. A new method for determining allowable daily intakes. *Fundam Appl Toxicol* 1984 ; 4 : 854-71.
9. California Environmental Protection Agency. *Guidance for Benchmark Dose (BMD) Approach - Quantal data. DPR MT-1*. Sacramento (California) : Medical Toxicology Branch, Department of Pesticide Regulation, California Environmental Protection Agency, 2004.
10. Edler L, Poirier K, Dourson M, *et al.* Mathematical modelling and quantitative methods. *Food Chem Toxicol* 2002 ; 40 : 283-326.
11. Paulsson B, Granath F, Grawe J, Ehrenberg L, Tornqvist M. The multiplicative model for cancer risk assessment : applicability to acrylamide. *Carcinogenesis* 2001 ; 22 : 817-9.
12. Moolgavkar SH, Leubeck EG. Dose-Response modelling for cancer risk assessment. In : Paustenbach DJ, ed. *Human and Ecological Risk Assessment – Theory and practice*. New York : John Wiley and Sons, 2002.
13. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Guidelines for Carcinogen Risk Assessment*. EPA/630/R-00/004. Washington (DC) : US EPA, Risk Assessment Forum, 1986.
14. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Guidelines for Carcinogen Risk Assessment*. NCEA-F-0644. Washington (DC) : US EPA, Risk Assessment Forum, 1999.
15. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Draft Final Guidelines for Carcinogen Risk Assessment*. EPA/630/P-03/001A. Washington (DC) : US EPA, Risk Assessment Forum, 2003.
16. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Supplemental Guidance for Assessing Cancer Susceptibility from Early-Life Exposure to Carcinogens*. EPA/630/R-03/003. Washington (DC) : US EPA, Risk Assessment Forum Technical Panel, 2003.
17. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Proposed Guidelines for Carcinogen Risk Assessment*. EPA/600/P-92/003C. Washington (DC) : US EPA, Office of Research and Development, 1996.
18. Science Advisory Board. *Review of the Office of Research and Development's Draft Guidelines for Cancer Risk Assessment by the Environmental Health Committee*. EPA-SAB-EHC-97-010. Washington (DC) : U.S. Environmental Protection Agency, Science Advisory Board, 1997.
19. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Methods for derivation of inhalation reference concentrations and application of inhalation dosimetry*. EPA/600/8-90/066F. Research Triangle Park (NC) : US EPA, Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office, 1994.
20. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Guidelines for Carcinogen Risk Assessment*. EPA/630/P-03/001B. Washington (DC) : US EPA, Risk Assessment Forum, 2005.
21. United States Environmental Protection Agency (US EPA). *Supplemental Guidance for Assessing Susceptibility from Early-Life Exposure to Carcinogens*. EPA/630/R-03/003F. Washington (DC) : US EPA, Risk Assessment Forum, 2005.
22. Office of Environmental Health Hazard Assessment. *No Significant Risk Levels for Carcinogens and Maximum Allowable Dose Levels for Chemicals Causing Reproductive Toxicity*. Berkeley (California) : California Environmental Protection Agency, Office of Environmental Health Hazard Assessment, Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section, 2005.
23. Office of Environmental Health Hazard Assessment. *Expedited Cancer Potency Values and Proposed Regulatory Levels for Certain Proposition 65 Carcinogens*. Berkeley (California) : California Environmental Protection Agency, Office of Environmental Health Hazard Assessment, Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section, 1992.
24. Office of Environmental Health Hazard Assessment. *Air Toxics Hot Spots Program Risk Assessment Guidelines – Part II – Technical Support Document for Describing Available Cancer Potency Factors*. Berkeley (California) : California Environmental Protection Agency, Office of Environmental Health Hazard Assessment, Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section, 2002.
25. Office of Environmental Health Hazard Assessment. *Technical Support Document for Describing Available Cancer Potency Factors*. Berkeley (California) : California Environmental Protection Agency, Office of Environmental Health Hazard Assessment, Air Toxicology and Epidemiology Section, 2005.
26. Santé Canada. *Valeurs guides fondées sur des critères sanitaires pour les substances figurant sur la deuxième liste des substances d'intérêt prioritaire*. Cat. H49-187/2004F. Ottawa (Ontario) : Santé Canada, Division des substances existantes, 2004.

27. Santé Canada. *Concentrations/doses journalières admissibles et concentrations/doses tumorigènes des substances d'intérêt prioritaire calculées en fonction de critères sanitaires*. Cat. H46-2/96-194F. Ottawa (Ontario) : Santé Canada, Direction de l'hygiène du milieu, Direction générale de la protection de la santé, 1996.
28. Santé Canada. *Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : Documentation à l'appui – Le trichloréthylène*. Ottawa (Ontario) : Santé Canada, Bureau de la qualité de l'eau et de la santé, Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, 2005.
29. Environnement Canada, Santé Canada. *Liste des substances d'intérêt prioritaire, rapport d'évaluation : acrylonitrile*. Cat. En40-215/49F. Loi canadienne sur la protection de l'environnement, 2000.
30. Rademaker BC, Guinee EP, Van De Plassche EJ. *The derivation of preliminary maximum permissible concentrations of volatile compounds in air*. Report no. 679101 009. Bilthoven (NL) : National Institute of Public Health and the Environment, 1993.
31. Janssen PJCM, Speijers GJA. *Guidance on the Derivation of Maximum Permissible Risk Levels for Human Intake of Soil Contaminants*. Report no. 711701 006. Bilthoven (NL) : National Institute of Public Health and the Environment, 1997.
32. Baars AJ, Theelen RMC, Janssen PJCM, et al. *Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels*. Report no. 711701 025. Bilthoven (NL) : National Institute of Public Health and the Environment, 2001.
33. World Health Organization (WHO). *Air quality guidelines for Europe*. Second edition. WHO regional publications, European series, No. 91. Copenhagen (DK) : WHO, Regional Office for Europe, 2000.
34. World Health Organization (WHO). *WHO Guidelines for drinking-water quality*. Third edition. Geneva (Switzerland) : WHO, 2004.
35. International Programme on Chemical Safety. *Environmental Health Criteria 170 : Assessing human health risks of chemicals : derivation of guidance values for health-based exposure limits*. Geneva (Switzerland) : World Health Organization (WHO), International Programme on Chemical Safety, 1994.
36. National Health and Medical Research Council (NHMRC). *Toxicity assessment for carcinogenic soil contaminants*. Canberra (Australia) : Commonwealth of Australia, Office of the National Health and Medical Research Council, Health Advisory Unit, 1999.
37. Fitzgerald DJ, Robinson NI, Pester BA. Application of Benzo(a)pyrene and Coal Tar Tumor Dose-Response Data to a Modified Benchmark Dose Method of Guideline Development. *Environ Health Perspect* 2004 ; 112 : 1341-6.
38. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). *The use of T25 Estimates and Alternative Methods in the Regulatory Risk Assessment of Non-threshold Carcinogens in the European Union (TR83)*. Brussels : ECETOC, 2002.
39. European Commission. *Guidelines for setting specific concentration limits for carcinogens in Annex I of Directive 67/548/EEC. Inclusion of potency considerations*. Brussels : Commission Working Group on the Classification and Labelling of Dangerous Substances, 1999.
40. Dybing E, Sanner T. Risk Assessment of Acrylamide in Foods. *Toxicol Sci* 2003 ; 75 : 7-15.
41. European Chemicals Bureau. *Technical Guidance Document in Support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Notified Substances, Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market*. Ispra (Italy) : European Commission, 2003.
42. European Commission. European Union System for the Evaluation of Substances 2.0 (EUSES 2.0). *Prepared for the European Chemicals Bureau by the National Institute of Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven (NL)*. RIVM Report no. 601900005. Bilthoven (NL) : National Institute of Public Health and the Environment, 2004.
43. Attias L, Boccardi P, Boeije G, et al. European union system for the evaluation of substances : the second version. *Chemosphere* 2005 ; 59 : 473-85.
44. Risk Assessment and Toxicology Steering Committee. *Assessment of chemical carcinogens : Background to general principles of a weight of evidence approach (cr8)*. Leicester (UK) : University of Leicester, MRC Institute for Environment and Health, 2002.
45. Risk Assessment and Toxicology Steering Committee. *Risk assessment approaches used by UK Government for evaluating human health effects of chemicals (cr2)*. Leicester (UK) : University of Leicester, MRC Institute for Environment and Health, 1999.
46. European Food Safety Authority. *Draft Opinion on a Harmonised Approach for Risk Assessment of Compounds Which are both Genotoxic and Carcinogenic*. Brussels : EFSA Scientific Committee, 2005.