



TTC (SPT) et WOE (PdIP) : Applications aux produits phytosanitaires (*et biocides*)

Fabrice Nessler
Institut Pasteur de Lille

Le concept TTC

- A été développé pour évaluer le risque lorsque l'exposition est faible et/ou en l'absence de données toxicologiques adéquates pour des substances chimiques
- Il propose une « *virtual safe dose* » pouvant être appliquée à tous les produits chimiques (y compris ceux ayant une toxicité inconnue, même s'ils s'avéraient toxique par la suite) quelle que soit leur structure (*à l'exception des produits présentant les structures de la « cohort of concern » pour lesquels une valeur plus faible est préférable*)

Cette méthode peut-elle être appliquée / élargie dans le champ des produits phytosanitaires (*biocides*)?

Application du TTC dans le cadre de l'enregistrement de substances phytosanitaires

Cas des métabolites et produits de dégradation dans les eaux souterraines

Evaluation de la pertinence des **métabolites*** dans les eaux souterraines
(Sanco/221/2000 – rev.10- final - 25 February 2003)

Evaluation Dangers : Identification des métabolites pertinents

- Si**
- activité biologique < molécule parent,
 - non génotoxique et
 - non toxique (reprotoxique, cancérogène, toxique ou très toxique).

Le **Scientific Committee on Plants** a proposé un **TTC de 1,5 µg / jour** soit 0,02 µg/kg pc/j → Suppose une consommation de 2 litres d'eau /j à une limite supérieure estimée acceptable pour la **concentration du métabolite de 0,75 µg / L** (voire un niveau < si les consommateurs exposés via d'autres routes)

Tout métabolite qui ne répond pas aux critères ci-dessus est considéré comme «pertinent» sous les aspects réglementaires et donc inacceptable à des niveaux de contamination des eaux souterraines > 0,1 µg / L

* Cf annexe VI de la Directive 91/414/EEC

Application du TTC aux métabolites, produits de dégradation et de réaction des pesticides

Métabolites et produits de dégradation des Substances Actives peuvent se former dans de nbx **compartiments environnementaux** (eaux de surface & souterraines, sols et air), dans **l'alimentation animale** ou dans les **aliments** consommation humaine.

➤ Déterminer la fiabilité de l'approche TTC (EFSA)

100 SA (inscrites ou non) ont été évaluées vis-à-vis du TTC :

- **Potentiel génotoxique** évalué par DEREK et comparé aux données connues de la Substance Active

- **Classes de Cramer** déterminées par Toxtree (Inh ChE considérés comme neurotoxiques)

- **Seuil de TTC** atteint comparé à la **DJA** de la Substance Active

➤ Fiabilité de l'approche TTC

Résultats comparaison données QSAR par rapport aux études toxicologiques

Endpoint#	SAR Alert	SAR alert matches data #	No SAR alert	No SAR alert but Data positive
-----------	-----------	--------------------------	--------------	--------------------------------

➤ Fiabilité de l'approche TTC

Résultats comparaison données QSAR par rapport aux études toxicologiques

Endpoint [#]	SAR Alert	64 % faux +		17 % faux -	
		matches data #	No SAR alert	Data positive	
Genotoxicity	28	10	72	12	

➔ **Génotoxicité : Très faible prédictivité**

		Prediction		
		positive	negative	
Test result $\Sigma N = TP + FN + FP + TN$	positive	True Positives (TP)	False Negative predictions (FN)	Sensitivity $= TP / (TP + FN)$
	negative	False Positive predictions (FP)	True Negatives (TN)	Specificity $= TN / (FP + TN)$
		Positive Predictivity $= TP / (TP + FP)$	Negative Predictivity $= TN / (FN + TN)$	Concordance $= (TP + TN) / (\Sigma N)$
		% correct positive predictions	% correct negative predictions	% correct overall predictions

➤ Fiabilité de l'approche TTC

Résultats comparaison données QSAR par rapport aux études toxicologiques

Endpoint#	SAR Alert	SAR alert	No SAR alert	No SAR alert but
		52 % faux +		28 % faux -
Genotoxicity	28	10	72	12
Carcinogenicity	40	19	60	17 (mainly liver)

➔ Génotoxicité : Très faible prédictivité

↗ si on considère les QSAR + en **génotox ou cancéro**
(➔ indiqueront les SA qui sont génotoxiques ET cancérogènes)

➤ Fiabilité de l'approche TTC

Comparaison des DJA aux classes de Cramer et seuils du TTC

Génotox : dès qu'une alerte DEREK *in vivo* ou *in vitro*

Neurotoxique : dès qu'un mécanisme d'action neurotoxique possible (classe de substances, mécanisme d'action)

Classe de Cramer : déterminée par *Toxtree*

Seuil de TTC	0,15 µg/pers (génotox)	18 µg/pers (mécanisme neurotox)	90 µg/pers (classe III)	540 µg/pers. (Classe II)	1800 µg/pers (Classe I)
Nb de SA	28	12	55	2	1

Résultats:

- 96% des SA sont couvertes par les valeurs du TTC
- 4% ont des DJA < valeur du TTC

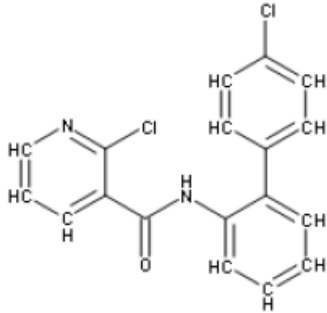
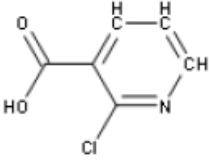
→ 4/100 ont des DJA < valeur du TTC

Aviglycine (0,67) , Haloxyfop-R (0,43), Amitrole (0,67) et 1-MCP (0,1)

- Rapport DJA/TTC est proche de 1 pour la plupart
- 3 classe III (90 µg/pers) et 1 classe II (540 µg/pers)
- DJA de aviglycine, amitrole et 1-MCP ont un Facteur de Sécurité supplémentaire pour pallier manque d'info
- DJA de Haloxyfop fort intervalle entre NOAEL et LOAEL.

Utilisation dans la définition des résidus : exemples

➤ Boscalide (fongicide) et son métabolite Chloronicotinic acid

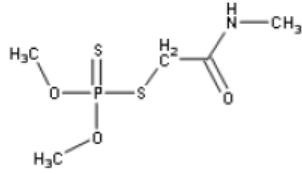
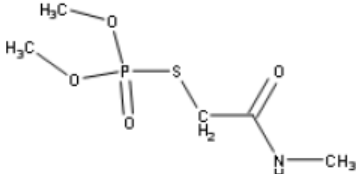
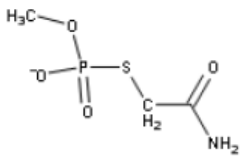
Name	Structure	SAR results	Toxicity data	TTC group exposure (µg/kg bw/d) [#]	Highest predicted exposures (µg/kg bw/d)	Outcome
Boscalid active substance		DEREK – nothing to report	Not carcinogenic or genotoxic. No significant reproductive effects	[EU ADI 40µg/kg bw]		
Chloronicotinic acid		DEREK – nothing to report	No data	1.5	Toddler 0.04 Adult 0.01	Not relevant

[#] - assuming 60 kg bw, all compounds are Cramer class III unless specified and reliable SAR prediction for genotoxicity

Inscrit Annexe I

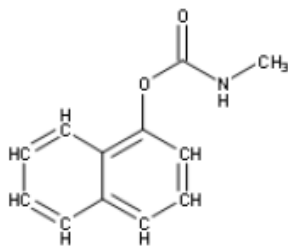
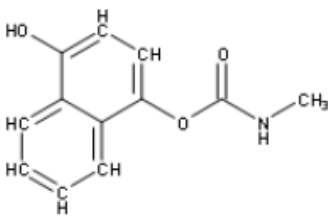
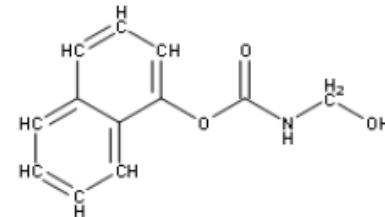
Au niveau Européen, la définition du résidu n'inclut que le Boscalide.

➤ Diméthoate (insecticide organo-phosphoré)

Name	Structure	SAR results	Toxicity data	TTC group exposure (µg/kg bw/d)#	Highest predicted exposures (µg/kg bw/d)	Outcome
Dimethoate		DEREK - cholinesterase inhibition [003], mutagenicity [305], skin sensitisation [462]	Cholinesterase inhibitor. Oral LD ₅₀ ~300 mg/kg bw Not genotoxic in vivo. No significant reproductive effects. Not carcinogenic.	0.3 (neurotoxic) [EU ADI 1.0µg/kg bw]		
Omethoate		DEREK - cholinesterase inhibition [003], mutagenicity [305], hepatotoxicity [653], skin sensitisation [462]	ChE inhibition (more potent than dimethoate); oral LD ₅₀ ~25 mg/kg bw not genotoxic in vivo	0.3 (neurotoxic) [genotox alert overridden by data]	Toddler 0.56 Adult 0.14	Relevant / additional consideration necessary EFSA ADI proposal 0.3µg/kgbw
O-desmethyl-N-desmethyl omethoate		DEREK - hepatotoxicity [653]	No ChE inhibition (rat, single dose)	1.5	Toddler 6.1 Adult 1.53	Relevant / additional consideration necessary

Inscrit Annexe I : Définition du résidu UE = diméthoate et ses 2 métabolites

➤ Carbaryl (insecticide carbamate)

Name	Structure	SAR results	Toxicity data	TTC group exposure (µg/kg bw/d) [#]	Highest predicted exposures (µg/kg bw/d)	Outcome
Carbaryl active substance		DEREK - chromosome damage [580], cholinesterase inhibition [009]	Cholinesterase inhibitor. Not genotoxic in vivo. No significant reproductive effects. Carcinogen.	0.3 (neurotoxic) [EU ADI 7.5µg/kg bw]		
4-Hydroxycarbaryl glycoside		DEREK - chromosome damage [580], cholinesterase inhibition [009], skin sensitisation [439], [417]	4-hydroxycarbaryl- in vitro ChE inhibitor; LD50 1190 mg/kg bw	0.3 (neurotoxic)	Toddler 0.005 Adult 0.004	Not relevant
(Hydroxymethyl) carbaryl hexose conjugate		DEREK - mutagenicity [307], skin sensitisation [426]		0.0025 (genotox alert)	Toddler 0.0061 Adult 0.004	Relevant / additional consideration / genotoxicity data necessary

[#] - assuming 60 kg bw, all compounds are Cramer class III unless specified and reliable SAR prediction for genotoxicity

Genotoxic alert unique to the transformation product;

Genotoxic also present in active substance

➔ Non inscrit

Limites et Conclusion

- Seuils du TTC sont dans l'ensemble suffisamment protecteurs
- Par défaut on considère génotox dès qu'une alerte (*in vivo* et/ou *in vitro*) est présente (sauf si étude(s) démontre(nt) le contraire)
- Le seuil de neurotoxicité (18 µg/j) est étendu à tous les composés ayant 1 mode d'action neurotoxique.
- Peut être appliqué à d'autres substances (additifs, métabolites plantes,...)
- QSAR : → assez bonne « negative predictivity » mais
→ faible « positive predictivity »

Limites de cette approche :

- L'exposition aigue n'est pas évaluée
- Ne couvre pas l'immunotoxicité, les PE, les métaux
- Le TTC ne devrait pas être appliqué à des cancérogènes pour lesquels des données sont disponibles et permettent une ERS

Le concept du TTC reste débattu, doit rester une solution provisoire, si :

- **Pas de données disponibles ou inadéquates pour une caractérisation du risque**
- **“Révisé” en cas de nouvelles données**
- **Informations sur l'exposition humaine cruciale (ou estimation précise)**

Il ne devrait pas exempter les investigations (géo)toxicologiques notamment pour des nouvelles substances

WoE

« *Dans certains cas après l'évaluation de l'ensemble des données disponibles, le **WOE** suggère l'absence de danger génotoxique* »

Importance de considérer l'ensemble des données disponibles (y compris non toxicologiques) pour conclure quant à la pertinence des effets toxiques observés et émettre des hypothèses afin de mieux sélectionner les éventuelles études complémentaires à effectuer, pour une meilleure évaluation du risque pour l'homme

USFDA, january 2006

Guidance for Industry and Review Staff:

Recommended Approaches to Integration of Genetic Toxicology Study Results

Schéma d'interprétation des batteries standard et de leur suivi

Conduct Core Battery

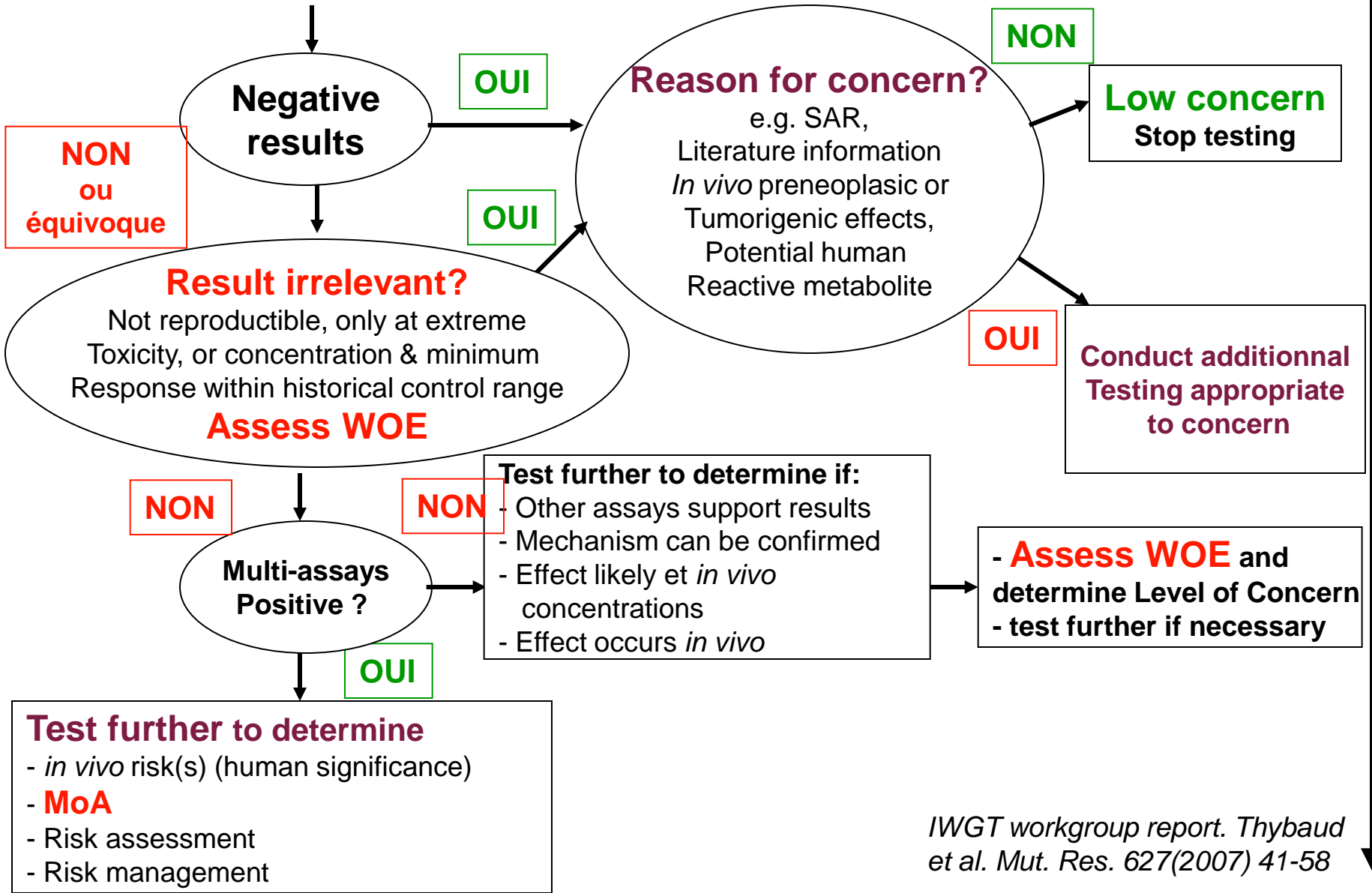
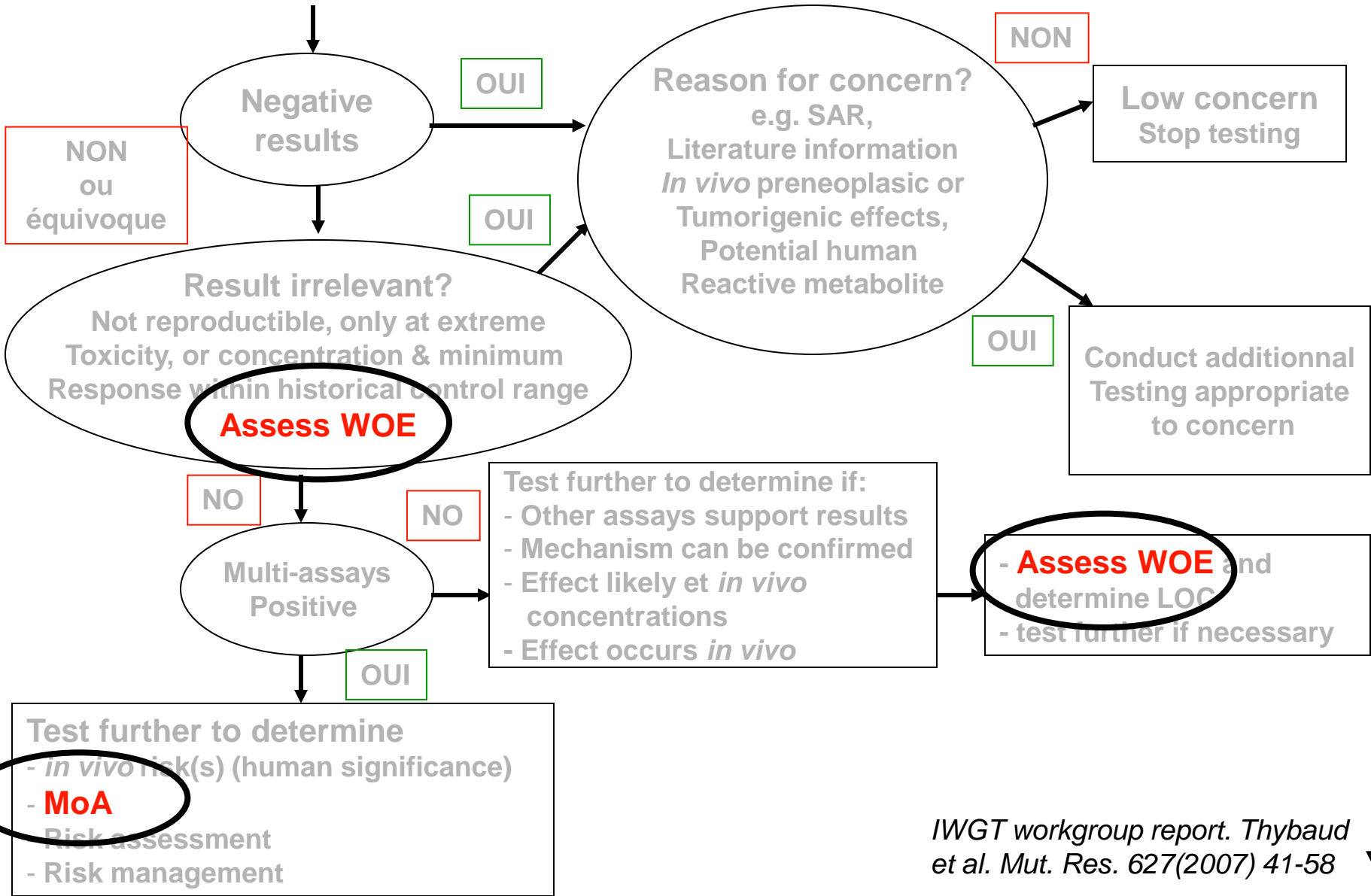


Schéma d'interprétation des batteries standard et de leur suivi

Conduct Core Battery



Evaluation du WoE

- La réponse positive observée *in vitro* et/ou *in vivo* ?
- La réponse positive est-elle reproductible ?
- La réponse est-elle dose-reliée ?
- Quelle est l'amplitude de la réponse ?
- Réponse est-t-elle en dehors la distribution des témoins négatifs historiques ?
- La réponse positive observée uniquement à 1 dose hautement cytotoxique ?
- La réponse positive observée dans plus d'1 type d'essai ?
- A t'on déterminé le(s) MoA ? Et peut-on envisager un mécanisme à seuil ou une relation dose-effet non-linéaire ?

Origines de résultats positifs non pertinents *in vitro*

- Métabolisme bactérien
- Présence d'**O-acetylserine(thio)lyase** **histidine, autres acides aminés** (Khandoudi et al, 2009), certains Sodium azide **→** Azidoalanine (mutagène)
- **NEPtAs** (Thompson et al, 2005) (mammifère), non cancérigène chez le rat.
→ mutagenèse sur bactéries considérée non pertinente pour évaluation du risque
- Niveau de **toxicité excessif** dans les tests sur cultures cellules (Greim, 2003).
- Variations excessives de **pH** et/ou d'**osmolalité** (>50)
NR absentes chez les mammifères
- Cassures chromosomiques résultant de l'**apoptose** (Meintières et al, 2003)
- Perturbation des **pools de nucléotides, calcique**
- **Impuretés**, produits de dégradation
- Différence **métabolisme** *Vivo vs. Vitro* - espèce

Origines de résultats positifs non pertinents *in vitro*

Type et origine des cellules



→ Lc humains et cellules TK6 induisent moins de résultats faussement positifs que cellules V79 et L5178Y (*Kirkland et al., 2007 ; Honma & Hayashi, 2011*)

→ Cellules de hamster + sensible à l'aneuploïdie que cellules humaines (*Hilliard et al, 2007*)

→ Tests de génotoxicité sur des cellules de mammifères *in vitro* montrent un taux élevé de résultats positifs mais ≠ génotoxicité *in vivo* ou données de cancérogénicité chez le rongeur (*Fowler et al, 2012*)

⇔ Cellules **déficiantes en réparation de l'ADN**

Instabilité des cellules et conditions de culture :

- Différence de sensibilité de lignées entre labos → sous-clones
- Différence of detoxification, de neutralisation des ERO, instabilité génomique,...
- Différences de composition du milieu culture (certaines ERO formées par réaction entre la substance chimique et le milieu de culture) (*Kirkland et al, 2007*)

Nécessité de contrôler les conditions expérimentales et bonne connaissance des modèles

Origines de résultats positifs non pertinents *in vivo*

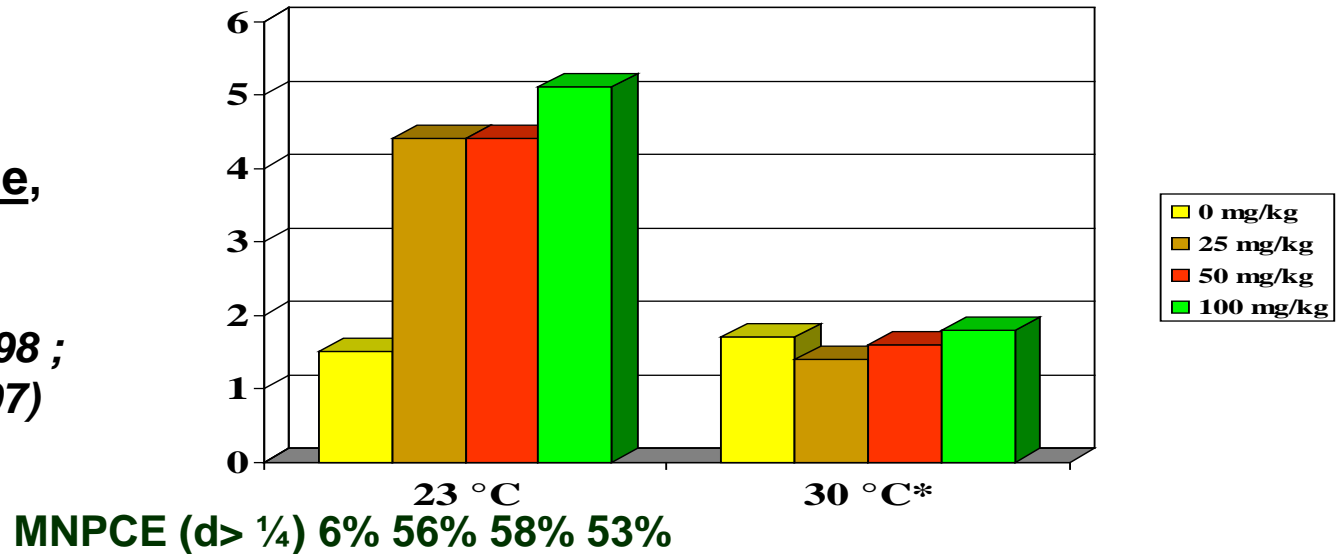
Dans micronucleus moelle osseuse de rongeurs

- Effet de la température corporelle

Hypothermie

Chlorpromazine,
phénol...

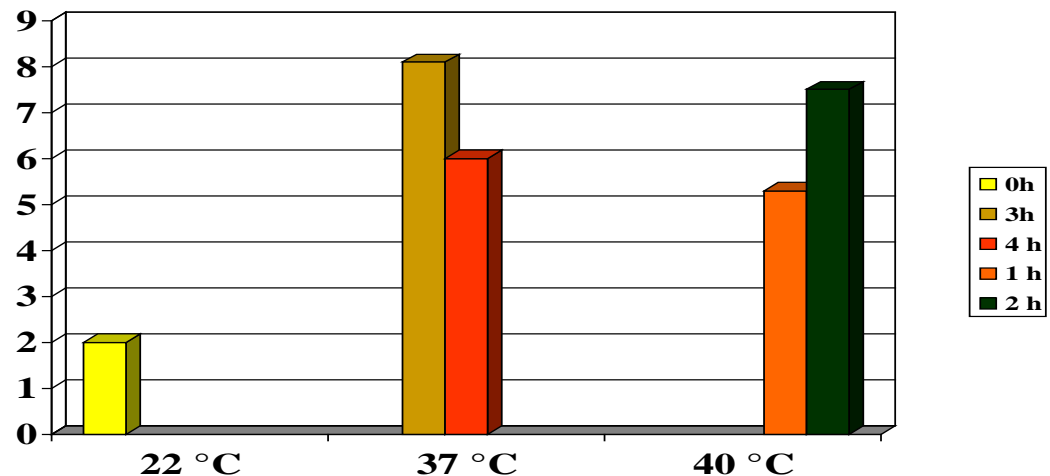
(Asanami et al, 1998 ;
Tweats et al, 2007)



Hyperthermie

Oxymorphone

(Asanami et al, 1997 ;
Shuey et al, 2007)



Origines de résultats positifs non pertinents *in vivo*

Dans micronucleus moelle osseuse de rongeurs

- Effet de la température corporelle

- Effet sur l'érythropoïèse

- Saignements excessifs (*Hirai Y. et al. 1991*),
- Hémolyse (*Steinheider G. 1986*)
- Stimulation : EPO (*Suzuki Y. et al. 1989- Suzuki O. et al. 1989; Yagima N. et al 1993*)

Origines de résultats positifs non pertinents *in vivo*

Dans micronucleus moelle osseuse de rongeurs

- Effet de la température corporelle
- Effet sur l'érythropoïèse
- **Inhibition de la synthèse protéique** (Ex. : cycloheximide)
- **Agents antifolate**
 - ↓ thymidine → ↑ uridine
 - peuvent perturber la réplication normale de l'ADN
- Inhibiteur de la MEK1 kinase (nécessaire pour fonction normale fuseau mitotique) : activité aneugène (*Tweats et al, 2007*)
- **Inhibiteurs Kinases**
- **Inflammation** (exemple TiO₂ – *B Trouiller et al., 2009*)

Démontrer le WoE pour une substance génotoxique à seuil

- **Déterminer la relation dose-effet** (effet non-linéaire)
- **Déterminer une dose seuil** (« Point of Departure » → PoD !)
- **Mécanisme d'action** responsable de la présence d'un seuil ou de la non-pertinence des effets ou d'effets indirects (non-DNA reactive)



→ *Prise en compte de toutes les données, des caractéristiques physico-chimiques du produit, des étapes conduisant à l'effet génotoxique, des phénomènes de protection et de leur saturation éventuelle aux fortes doses, etc.*

Démontrer le WoE pour une substance génotoxique à seuil

- **Déterminer la relation dose-effet** (effet non-linéaire)
- **Déterminer une dose seuil** (« point of departure » → PoD !)
- **Mécanisme d'action**
 - **Mécanismes possibles de génotoxicité à seuil**
 - Perturbation de la division cellulaire
 - Perturbation de la ségrégation des chromosomes
 - Inhibition de la synthèse de l'ADN
 - Inhibiteurs de kinases (en particulier celles impliquées dans la régulation du cycle cellulaire)
 - Inhibition des topoisomérases (stabilisation des complexes de clivage)
 - Déséquilibre du pool des nucléotides
 - Dépassement des mécanismes de défense oxydatives
 - Chélation d'ions
 - Dépassement métabolique (capacité de détoxification, conjugaison)
 - Dépassement de capacité de liaison plasmatique
 - Perturbation de l'homéostasie des métaux
 - Perturbation physiologique, e.g. induction de l'érythropoïèse
 - Fixation des adduits en mutation (essais transgéniques)
 - ...

Démontrer le WoE pour une substance génotoxique à seuil

- **Déterminer la relation dose-effet** (effet non-linéaire)
- **Déterminer une dose seuil** (« point of departure » → PoD !)
- **Mécanisme d'action**
- **Caractérisation de l'exposition** (toxico/pharmacocinétique)
 - chez l'animal (à la dose seuil)
 - chez l'homme (aux doses thérapeutiques maximales)
- ➔ **Estimation des facteurs de sécurité et du risque pour l'homme dans les conditions d'exposition attendues** (différentes d'un type de produit à l'autre)

Exemple 1

Démonstration de spécificité d'espèce liée à des différences métaboliques

- **Produit XX 01 :**
 - Faiblement **positif en Ames**
 - **Positif en aberrations chromosomiques *in vitro*** sur lymphocytes humains
 - **Négatif en micronucleus sur moelle osseuse** chez le rat
 - **Négatif** en test de synthèse non programmée de l'ADN (test **UDS**) au niveau foie de rat

Exemple 1

- **Comet assay sur XX 01 : Design**
 - Foie ⁽¹⁾
 - Estomac ⁽¹⁾
 - 2 traitements (24 heures d'intervalle)
 - Recueil 2 - 4 heures après le dernier traitement
 - Isolement des cells par digestion enzymatique
 - Cytotoxicité évaluée par bleu deTrypan & histologie

(1) Organes avec les + fortes concentrations chez le rat (¹⁴C-XX 01)

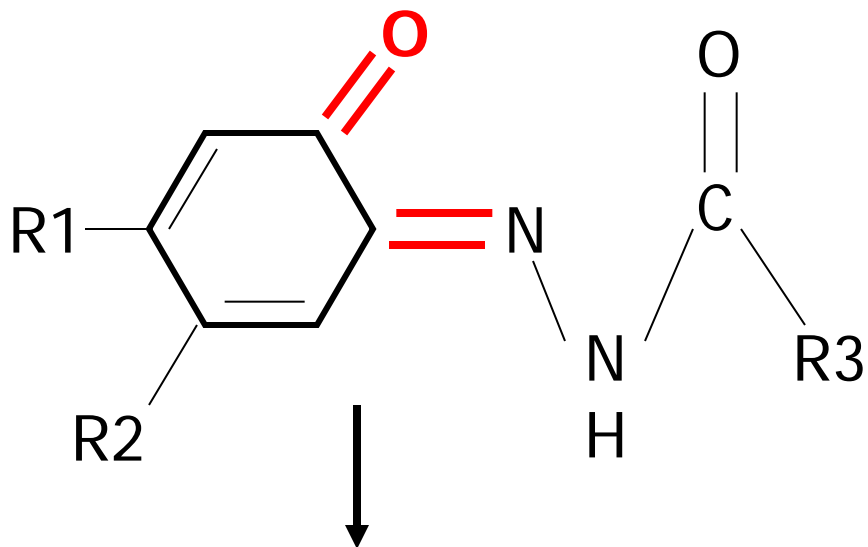
Exemple 1

- **Comet assay sur XX 01 : Résultats**
 - Foie : Négatif
 - **Estomac : Clairement positif**

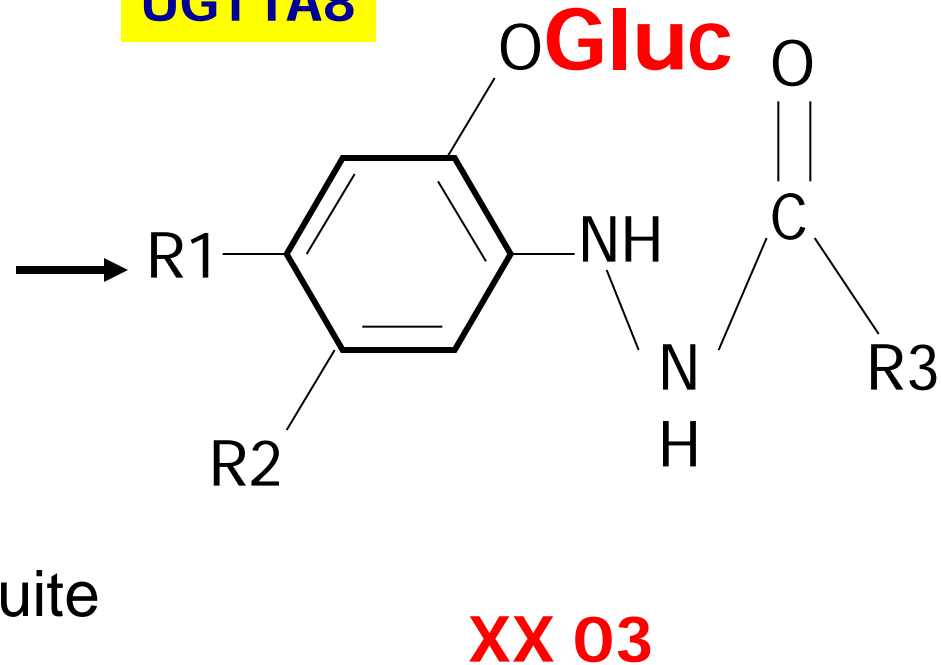
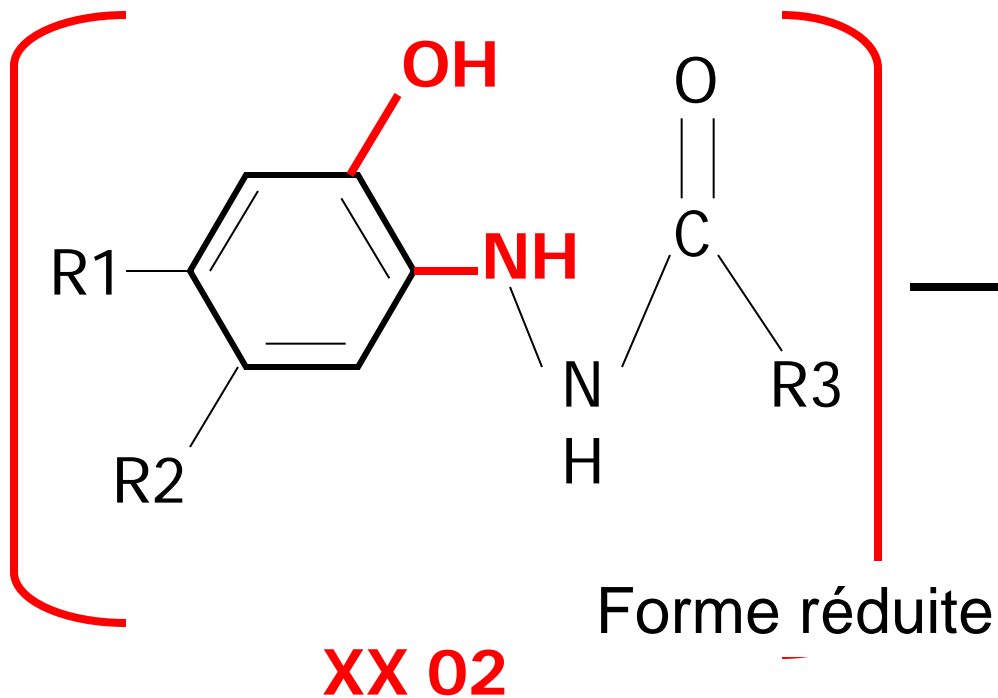
Métabolisme XX 01

Voie principale

XX 01



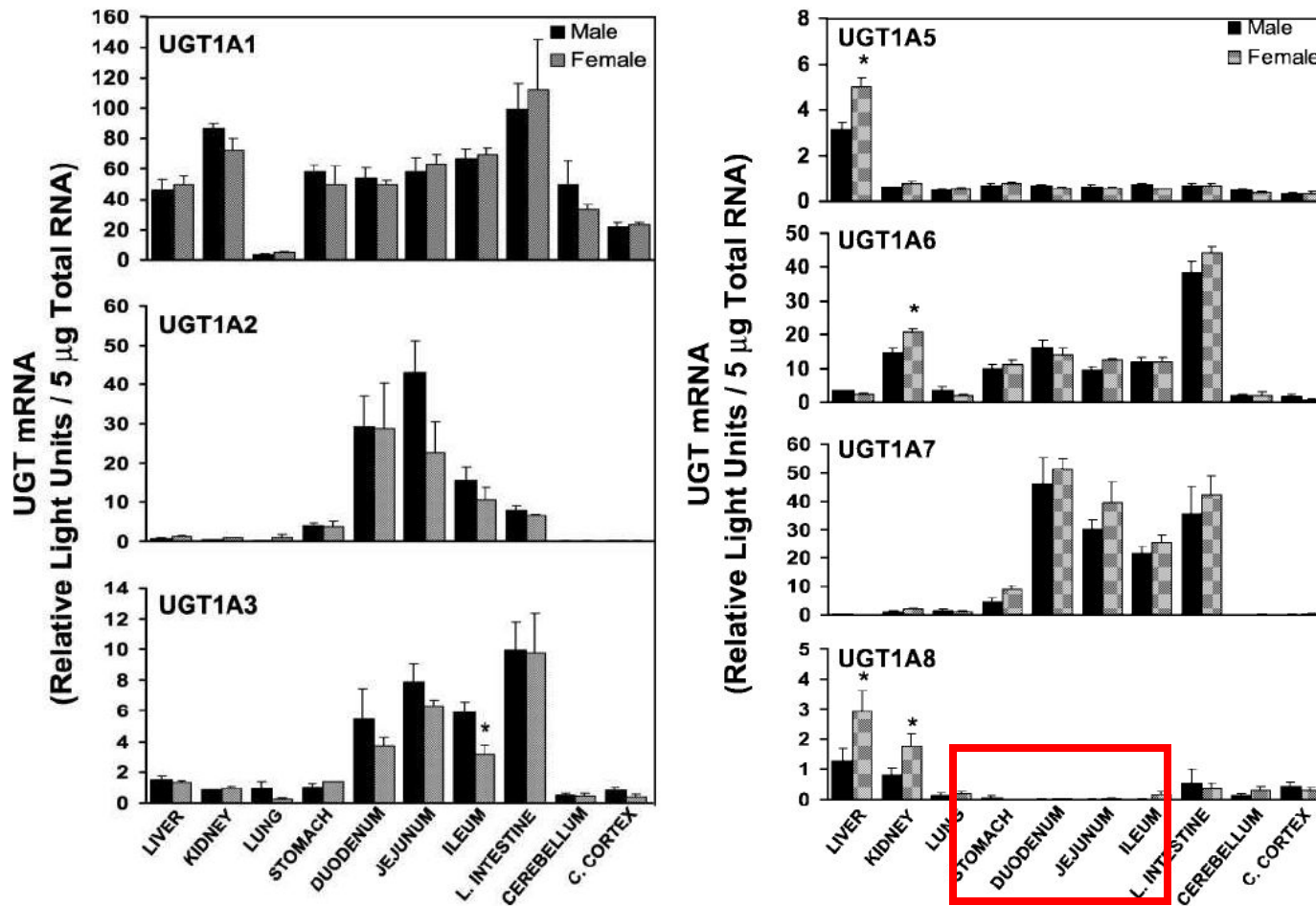
UGT1A8



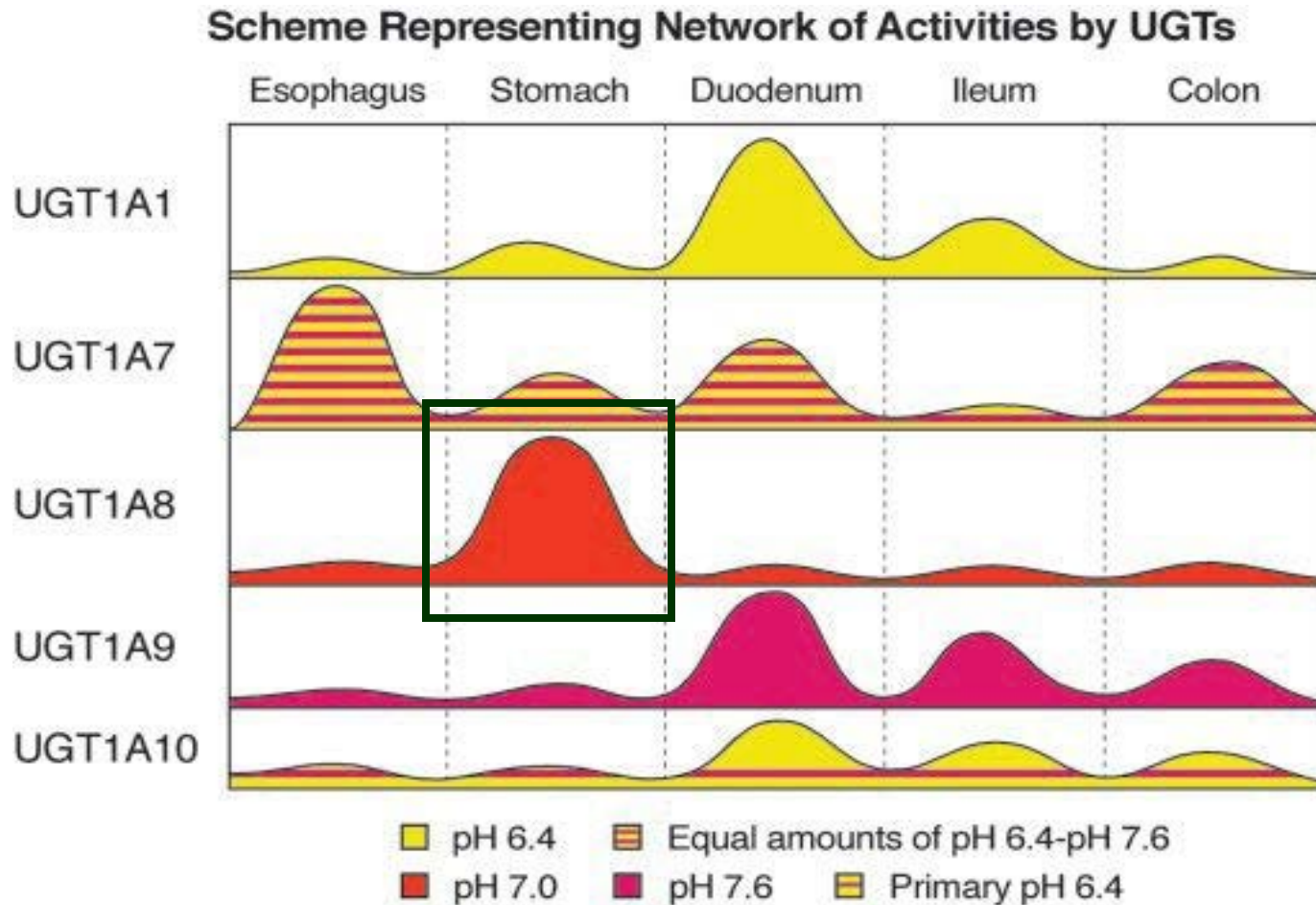
Messenger RNA levels of UGT1A1, UGT1A2, UGT1A3, UGT1A5, UGT1A6, UGT1A7 and UGT1A8 in various tissues of rats

330

SHELBY ET AL.



Composite scheme depicting relative levels of UGT in segments of **GI tissues in human**



Exemple 1

- **Analyse du contenu gastrique chez le rat**
 - Présence de xx 01 et de son métabolite xx 02 mais **pas de xx 03** (le métabolite glucuro conjugué)
- **Etude comparative muqueuse gastrique rat / humaine**
 - **Rat** : Présence de xx 01 et de son métabolite xx 02 mais pas de xx 03 (le métabolite glucuro-conjugué)
 - **Homme** : Présence de xx 01 et de xx 03 son métabolite glucuro conjugué mais **pas de xx 02**
- **xx 02 est un mutagène puissant**
 - Dans le test d'Ames
 - Dans le test micronucleus *in vitro*

Exemple 1

- **Mécanisme d'action proposé**

- XX 01 est métabolisé en XX 02 chez les 2 espèces
- Au niveau de la muqueuse gastrique chez l'homme et du foie chez le rat XX 02 est glucurono-conjugué (→XX 03)
- Au niveau de la muqueuse gastrique chez le rat XX 02 n'est pas glucurono conjugué en XX 03 car absence d'expression de l'UDPGT 1A8
 - Accumulation de XX 02 (mutagène ++)

WOE : Pas de risque pour l'homme malgré les résultats positifs *in vitro* et dans l'estomac chez le rat

sauf si la glucuro-conjugaison était « saturée » par de fortes doses ou l'individu déficient en UDPGT 1A8!

Exemple 2

Recherche du potentiel génotoxique du produit ZZZ

Exemple 2

Recherche du potentiel génotoxique du produit ZZZ

1. Test de mutation génique sur bactéries (OCDE 471) :
Test d'Ames **Négatif**
 2. Test de mutation chromosomique sur cellules eucaryotes (OCDE 473) :
Analyses de métaphases in vitro sur Lc H **Négatif**
- **Structure à risque (N-Nitrosamine)**
3. Test *in vivo* : **Test des comètes sur foie et estomac** de rat effectué suivant les recommandations internationales
3 niveaux de dose : 1250 (DMT) – 625 – 312,5 mg/kg/j (X2)

Test des comètes *in vivo* chez le rat

Résultats au niveau du foie

négatifs

Groupe	Dose mg/kg/j	Médiane OTM (/600)	Stat*
Témoin excipient	0	0,10	-
Pdt ZZZ	1250	0,29	N.S.
	625	0,13	N.S.
DMH	10	26,86	< 0,0001

* *Test t*

Test des comètes *in vivo* chez le rat

Résultats compilés au niveau de l'estomac

positifs

Groupe	Dose mg/kg/j	Médiane OTM (/600)	Stat*	Ghost cells	
				Relative GC/	P
Témoin excipient	0	6,29	-		
Pdt ZZZ	1250	6,05	N.S.	-	N.S.
	625	10,39	< 0,0001	0,97	<0,05
	312,5	4,36	< 0,0001	0,90	N.S.
MNNG	20	13,32	< 0,0001	0,94	N.S.


• *Test U Mann-Whitney*

•** *Nb de GC groupe traité / groupe témoin*

Test des comètes in vivo chez le rat

Résultats au niveau de l'estomac :

Données individuelles : **hétérogénéité**

Groupe	Dose mg/kg/j	Aal 1	Aal 2	Aal 3	Aal 4	Total
		Médiane OTM (/150)				Médiane OTM (/600)
Témoin excipient	0	5,85	5,03	8,88	6,25	6,29
Pdt ZZZ 	1250	4,80	7,23	9,05	4,95	6,05
	625	16,44	20,47	8,57	3,55	10,39
	325	5,80	6,72	4,38	1,23	4,36

Données historiques	Médiane OTM Minimale (par Aal)	Médiane OTM Maximale (par Aal)
Témoin négatif	1,14	- 8,86
MNNG	10,08	- 24,89



Histo-pathologie

Test des comètes *in vivo* sur foie et estomac de rat

Résultats analyse histo-pathologique

- Aucune anomalie chez les animaux contrôles
- **Lésions inflammatoires** et/ou **dégénératives** localisées au niveau de la **muqueuse glandulaire de l'estomac** chez les animaux traités
(exsudats, érosions, ulcérations, atrophie des villosités)

NB : Les 3 groupes de doses montrent des atteintes histologiques, mais elles sont moins marquées à 312,5 mg/kg/j (x2)

→ **Estomac : augmentation** de la fragmentation de l'ADN

Mais

- forte hétérogénéité inter-individuelle

- histo ++

En conclusion :

→ **Interférence atteintes histologiques avec TdC : fragmentation de l'ADN due à la toxicité**

→ **Le Pdt ZZZ considéré comme non génotoxique**

Conclusions

- **Evaluer la robustesse et la pertinence** de chacun des essais (Relation dose-effet, reproductibilité, comparaison avec les témoins historiques,...)
 - L'analyse peut dans certains cas s'arrêter là
- Si considérés pertinents, **comparer les résultats** des différents essais de génotoxicité, et prendre aussi en considération l'ensemble des données disponibles pour le produit (physico-chimie, présence d'alertes structurales, métabolisme, autres données de toxicité, etc.)
- **Déterminer si possible le MoA** (effets indirects in vitro et / ou in vivo, mécanismes pouvant expliquer la non-linéarité des effets génotoxiques, spécificité d'espèce et d'organe, mécanisme génotoxique / épigénétique, phénomènes de protection impliqués, ...)
- **Déterminer un seuil** pour les effets génotoxiques de préférence in vivo, les facteurs de sécurité et un taux d'exposition chez l'homme et l'animal
- Déterminer la **pertinence de l'ensemble des données pour l'homme** dans les **conditions d'exposition** anticipées

Importance d'évaluer le WOE et de déterminer le niveau de préoccupation avant d'envisager des tests supplémentaires



Merci
à Véronique Thybaud
à Antony Fastier
et au Pr Daniel Marzin

Merci de votre attention

**Albert Calmette : La passion
d'épauler**

Démontrer un « faux positif » *in vitro*

- Origins of *in vitro* false positive
 - Metabolism consideration

Enzyme CYP	CYP nmol/mg protein		Induction factor (rat)	Level human liver
	Untreated Rat	Arochlor Rat		
1A1	0.04	1.45	36	0
1A2	<0.03	1.23	<41	0/+
2B1	0.03	1.29	43	+
2B2	0.07	1.46	21	
2C6	0.36	0.36	1	++
2C11	1.20	0.27	0.23	
2D1	0.15	0.15	1	0/+
3A	0.39	0.77	2	+++

Concept et historique du TTC

➤ Définition :

Le concept TTC propose « **une valeur seuil minimale** » pouvant être identifiée pour de nombreux produits chimiques, y compris ceux ayant une toxicité inconnue, fondée essentiellement sur l'examen de leurs structures chimiques.

Et de leur

➤ Historique :

- **Frawley (1967)** : Concept TTC pour les résidus d'emballage dans l'alimentation
- **Cramer (1978)** : Création de **3 classes** d'après la toxicité de leur structure
- **FDA (1995)** : Adoption d'une TTC à **0,5 ppb** (~ **1,5 µg/j**) (selon une BDD de produits cancérogènes)
- **Munro et al (1996)** : Associent les classes de Cramer et les données toxicologie non cancéro (repro, développement, subchronique) → Elargissement de la TTC à **90, 540 ou 1800 µg/j**
- **Kroes et al (2004)** : TTC à **0,15 µg/j** pour les substances potentiellement génotoxique-cancérogènes (exclusion des **N-nitroso, azoxy, Aflatoxin like**)
- **Kroes et al (2007)** : Mise à part des neurotoxiques représentés par organophosphates :
TTC à **18 µg/j**

Manque réf
évaluation c

Méthode TTC

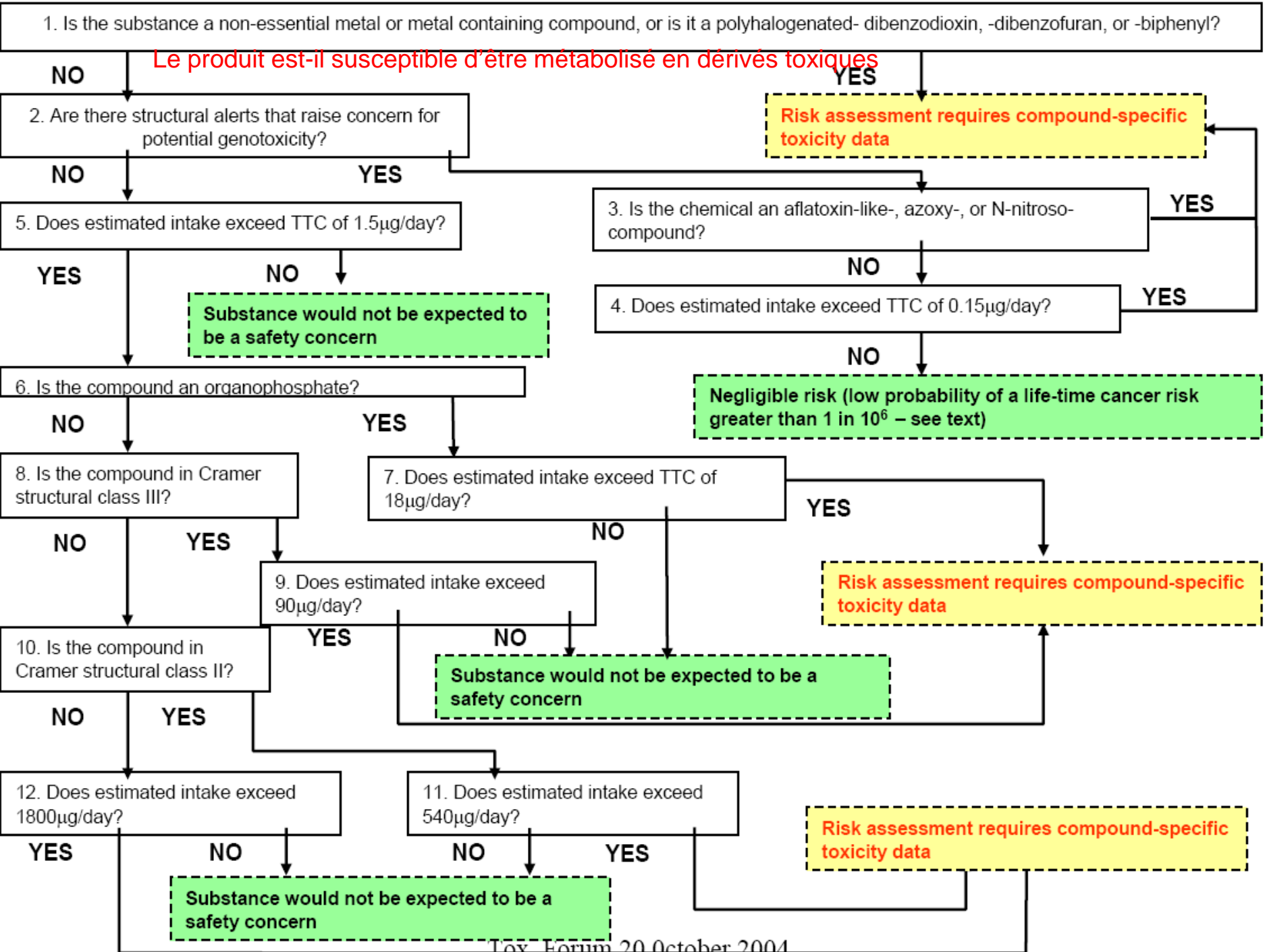
- Classification de **Cramer** et al (1978) **définissant 3 classes structurales de produits**

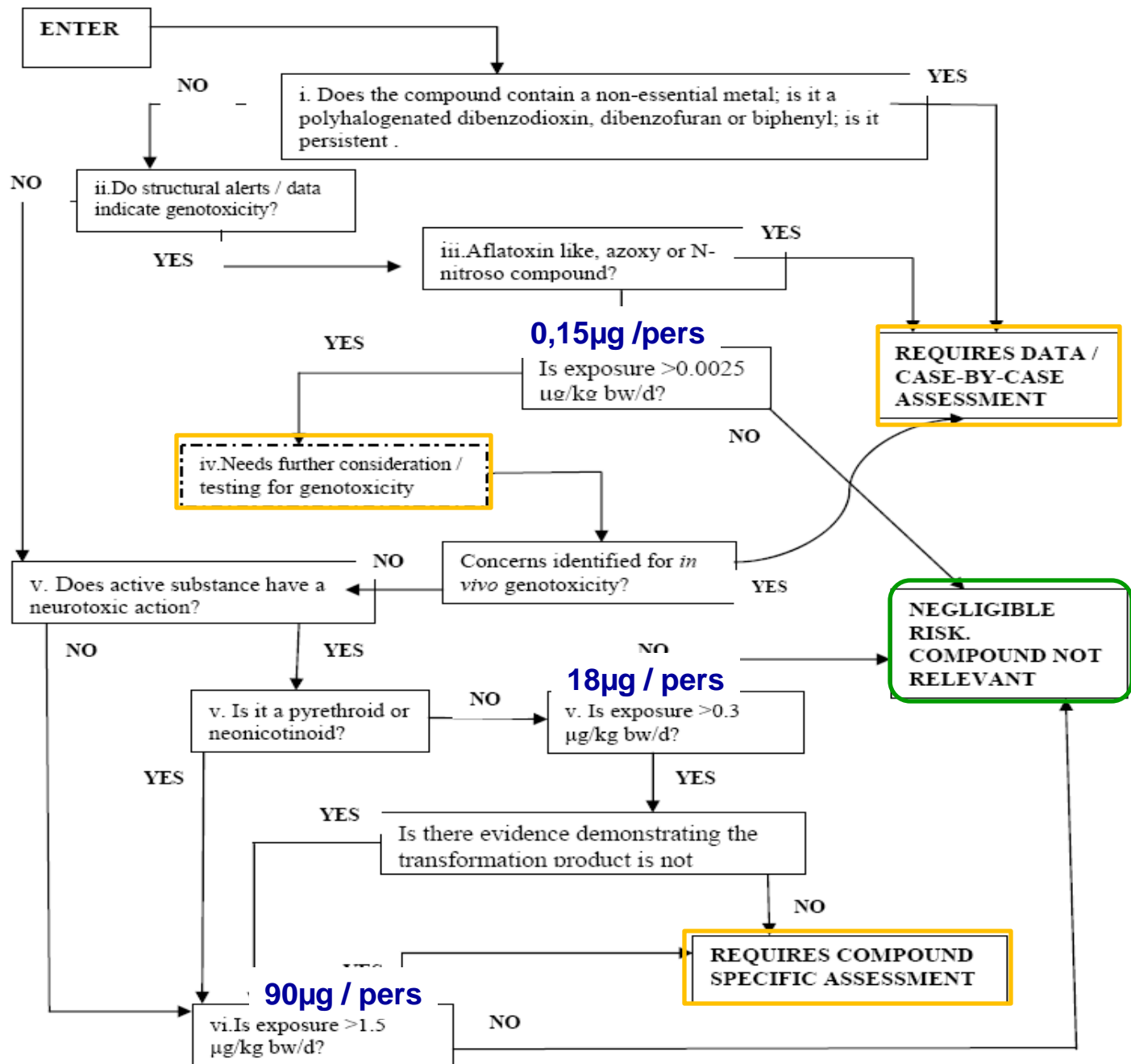
Classe I	Substances possédant une <u>structure chimique simple</u> et dont le métabolisme suggère une faible toxicité par voie orale (par exemple, acide-L-glutamique, mannitol, propylène glycol).
Classe II	Substances pour lesquelles les connaissances sur leur métabolisme, leur pharmacologie et leur toxicologie sont <u>peu documentées</u> , mais pour autant il n'existe pas d'indication visible de toxicité (par exemple, β -carotène, le phtalate de diallyle).
Classe III	Substances qui ne permettent <u>pas de conclure</u> sur leur sécurité, pouvant même suggérer une <u>potentielle toxicité significative</u> (ex, acétonitrile, 2,4-dinitrotoluène, chlorobenzène ou p-aminophénol).

- The non-cancer toxicological endpoints database of Munro et al. (1996)

Classe	Nb de substances / classe	5th percentil de la NOAEL (mg/kg pc/jour)	Valeur de la TTC (μ g/personne/jour)
I	137	3.0	1800
II	28	0.91	540
III	448	0.15	90

Le produit est-il susceptible d'être métabolisé en dérivés toxiques





- Génotoxicité :

SAR

demande tests in vivo si absents

- Neurotoxicité:

Mécanisme d'action du parent

Pyrethrinoides et nicotinoides

- Classe III de cramer

Utilisation du TTC dans les agences d'évaluation

➤ Questionnaire (ANSES en 2011?):

- ✓ Envoyé à ≠ organismes de UE en charge de la sécurité alimentaire
- ✓ Déterminer le type de substances testées, valeurs seuils utilisées
- ✓ Raisons de non-utilisation

➤ Réponses obtenues:

- ❖ TTC est utilisé pour **application limitée** : (flavouring, impuretés pharmaceutiques, substances migrant d'emballage, qq métabolites de pesticides)
- ❖ Consensus ds l'utilisation des valeurs de Kroes (0,15 et 1,5 µg/j)
- ❖ Non utilisé pour les raisons suivantes :
 - composés n'entrant pas ds le schéma TTC (N-Nitroso, AF, Azoxy, TCDD)
 - expo > 1,5 µg/pers
 - QSAR pas validé pour métabolites pesticides

Proposition d'un TTC plus approprié

- **Génotoxicité** : difficulté de prédiction SAR :

- ⇒ limiter à **0,15 µg/j** dès qu'une alerte existe (ou faire études)
- ⇒ comparer au parents, ou si métabolisé chez animal

- **Neurotoxicité** : **TTC actuel limite la neurotoxicité aux OP suffisant?**

L'étude a montré que les produits considérés comme neurotoxiques ont souvent une DJA comprise entre 90 µg/pers (valeur Cramer III) et 18 µg/pers (OP)

→ Proposition de limiter à **18 µg/pers TOUS** les composés et métabolites dont parent a un MoA neurotoxique (ANSES).

Cas des Pyréthriinoïdes et Nicotinoïdes :

DJA est >> 90 µg/kg (pas déterminée à partir d'étude neurotoxique)

→ Pyréthriinoïdes ne sont pas considérés dans le groupe des neurotoxiques du TTC

Etude de cas : Evaluation de l'exposition

- Calcul de la quantité de SA ou métabolite à laquelle l'homme est exposé via la formule suivante :

$$\text{Intake} = \frac{\text{STMR (mg/kg)} \times \text{food consumption value (kg)}}{\text{Mean bodyweight for consumer group (kg)}}$$

Units = mg/kg bw/day

STMR= médiane des résidus (représente expo chronique)

Food Consumption = consommation moyenne de différentes classes (adultes et bébé (18 mois-4ans) - source UK

- Exposition est comparée à la valeur du TTC qui détermine si « non pertinent », ou s'il faut d'autres informations.

→ Permet de limiter la demande d'infos et screener les métabolites les plus importants