RENÉ TRUHAUT

FACULTÉ DE PHARMACIE - UNIVERSITÉ DE PARIS (FRANCE)

64. ADDITIFS AUX ALIMENTS: LES RISQUES DE NOCIVITE POUVANT RESULTER DE LEUR EMPLOI INCONSIDERE - LES METHODES DE PREVENTION

L'étude des risques de nocivité pouvant résulter de l'incorporation d'agents chimiques aux aliments constitue un des grands problèmes actuels de la toxicologie, car, avec le développement sans cesse croissant des applications de la chimie dans le domaine alimentaire, de très nombreuses substances peuvent se trouver incorporées dans les denrées que nous consommons:

— *soit par suite de traitements précédant la récolte ou l'abattage*: entrent dans cette catégorie les traitements contre les parasites et les ravageurs des cultures mettant en oeuvre une série d'agents chimiques, qualifiés en général de *pesticides* (insecticides, fongicides, herbicides, etc...), dont beaucoup sont suffisamment stables, vis à des agents physiques, chimiques ou biologiques, pour persister dans les denrées offertes aux consommateurs si des précautions convenables ne sont pas prises.

Y entrent également les traitements divers auxquels peuvent être soumis les animaux dont la chair ou certains produits issus de leur organisme (lait, oeufs...) servent à l'alimentation humaine: mollusques, crustacés, poissons, volailles, porcins, ovidés, bovidés, etc... A cet égard, il faut mentionner, entre autres, les divers agents d'engraissement (oestrogènes, antibiotiques, dérivés arsenicaux...) et certains produits à action médicamenteuse, employés pour prévenir les épidémies, les agents anticoccidiens chez la volaille par exemple. Le problème qui se pose alors est de savoir si de tels produits demeurent à l'état de résidus dans les denrées animales offertes, après abattage, à la consommation.

— *soit par suite de souillures au moment de la préparation, lors de la conservation ou au cours de la distribution*: dans cette catégorie figurent, entre autres, les produits pouvant être cédés aux aliments par les emballages qui servent à leur stockage, ou par les cuves ou les canalisations servant à leur transport à distance.

— *soit enfin, et surtout, par suite de l'addition volontaire d'agents chimiques dans des buts divers: conservation, amélioration de l'odeur et de la saveur, amélioration de l'aspect en général...*

Le plus souvent, on réserve le nom d'additifs aux seules substances ajoutées volontairement, donnant celui de contaminants aux substances incorporées fortuitement.

Bien que l'on tende actuellement de plus en plus à grouper sous le vocable additifs l'ensemble des produits pouvant être incorporés aux aliments dans les diverses circonstances qui viennent d'être énumérées, j'ai conservé, pour limiter autant que possible un sujet terriblement vaste, le sens restreint, c'est à dire que, sauf de rares exceptions motivées par le désir de fournir des exemples spectaculaires de nocivité, j'examinerai seulement les substances ajoutées volontairement, tout en précisant que les problèmes toxicologiques et hygiéniques posés par les autres agents chimiques pouvant être incorporés aux aliments, sont exactement du même ordre (*).

Mon exposé comprendra trois parties principales:

Je débuterai par des considérations générales concernant la nature des problèmes posés par l'utilisation des additifs aux aliments (*) et j'en profiterai pour souligner l'importance trop souvent méconnue des effets de toxicité à long terme.

Je m'efforcerai ensuite de montrer, par des exemples choisis dans les divers groupes que je viens d'indiquer, les risques de nocivité que peut comporter l'addition inconsidérée d'agents chimiques aux aliments, tout en envisageant, dans chaque groupe, un certain nombre de produits, dont l'emploi en alimentation peut être, au moins dans certaines limites, autorisé sur la base de données toxicologiques adéquates.

J'essaierai enfin d'établir une doctrine générale de prévention des risques liés à l'emploi des additifs aux aliments, et j'indiquerai, à ce propos, en les commentant, les résolutions les plus importantes adoptées, en face de ces problèmes, au cours des réunions de groupes d'experts internationaux aux travaux desquels j'ai eu l'honneur de participer pendant ces dix dernières années.

(*) Dans des articles ultérieurs, j'étudierai d'autres produits que les additifs proprement dits, et en particulier les pesticides et les agents de contamination des denrées alimentaires pouvant provenir de l'utilisation d'emballages non conformes aux règles de l'hygiène et de la toxicologie.

(*) L'expression « additifs aux aliments » me parait bien préférable à celle couramment employée d'« additifs alimentaires », car, sauf pour un nombre relativement restreint d'additifs ayant une valeur nutritive, une telle dénomination est manifestement incorrecte si on la prend dans son sens littéral.

I - CONSIDERATIONS GENERALES.

Je voudrais souligner tout d'abord que les problèmes posés par l'emploi des additifs aux aliments revêtent toujours un double aspect.

1) *Du point de vue économique et social*, il faut bien savoir que l'emploi de certains de ces produits, et en particulier des conservateurs, présente l'avantage de permettre de tirer le meilleur parti de nos ressources alimentaires, ce qui est très important, en raison de l'augmentation croissante de la population du globe et aussi de l'existence d'excédents, aussi bien dans l'espace, en raison de la localisation de certaines cultures et de certains élevages, que dans le temps, en raison du caractère saisonnier de la plupart des récoltes. L'existence de ces excédents momentanés oblige à recourir à des moyens de conservation qui sont encore plus indispensables dans le cas des pays sous-développés manquant d'équipements frigorifiques pour le stockage ou le transport, ainsi que de moyens de communications rapides, surtout lorsque les conditions climatiques (chaleur et humidité des pays subtropicaux) favorisent la pullulation des déprédateurs, ainsi que les altérations chimiques ou celles induites par les micro-organismes (bactéries, levures ou moisissures). Point n'est besoin de souligner que, dans une période où se développent à juste titre les campagnes contre la faim du monde, cet impératif devient encore plus catégorique dans les régions surpeuplées souvent exposées à la famine.

2) Mais, *du point de vue de l'hygiène*, se trouvent ainsi posés des problèmes d'une grande importance, car, même avec des produits rigoureusement démontrés dépourvus de *toxicité dite aiguë ou subaiguë* aux doses utilisées, il y a toujours à redouter que l'absorption répétée de doses même très minimes puisse exercer à la longue des effets nocifs, dits de *toxicité chronique*, d'autant plus insidieux qu'ils ne comportent en général aucun signe d'alarme et s'avèrent très souvent irréversibles ([97]).

A ces formes d'intoxications, on donne en général le nom d'intoxications chroniques. C'est, à mon avis, une mauvaise dénomination, car il est possible qu'une lésion irréversible, et par suite chronique, soit la conséquence lointaine de l'absorption d'une seule dose (production de cancers du foie chez le Rat par la diméthyl-nitrosamine par exemple). C'est pourquoi nous préférons parler d'intoxications à long terme par absorption répétée.

Les facteurs conditionnant l'apparition de phénomènes de toxicité à long terme sont au nombre de trois principaux:

— propriétés cumulatives,

— sommation des effets,

— effets de toxicité ou de nocivité à long terme par des mécanismes indirects.

A - Propriétés cumulatives.

De nombreuses substances possèdent des propriétés cumulatives, c'est-à-dire sont susceptibles d'être retenues plus ou moins longtemps dans l'organisme.

L'absorption prolongée de petites doses de ces substances, qui, si leur élimination était suffisamment rapide pour être totale dans l'intervalle entre chaque exposition, serait sans conséquences discernables, permet ainsi, au bout d'un certain temps, dépendant de la grandeur de chacune des doses isolées, de la vitesse de leur élimination et de la longueur des intervalles qui s'écoulent entre chaque absorption, d'atteindre, au niveau des récepteurs sensibles, le seuil de concentration nécessaire à la manifestation des effets toxiques. Ces derniers sont donc une fonction des doses retenues et la somme des doses absorbées avant d'aboutir à la réalisation de la concentration toxique est évidemment d'autant plus élevée que ces doses ont été plus fractionnées dans le temps, ce qui a favorisé leur élimination.

Les mécanismes conditionnant la rétention dans l'organisme peuvent être de nature physique ou de nature chimique.

Parmi les propriétés physiques jouant un rôle important, il faut surtout mentionner la solubilité dans les tepides, qui, associée à une solubilité pratiquement nulle dans les liquides aqueux, s'oppose à une rapide élimination; tel est le cas pour les nombreux *pesticides organohalogénés*, actuellement employés dans la lutte contre les insectes parasites des cultures, la stabilité chimique de ces composés liposolubles augmentant encore leur aptitude au stockage. En conséquence, les consommateurs des produits végétaux traités sont, si des précautions rigoureuses ne sont pas prises, exposés à des risques de nocivité. Certains prétendent que le stockage, révélé par de nombreuses analyses, d'insecticides tels que le DDT dans les réserves adipeuses, constitue, du fait du caractère physiologiquement inactif de ces dernières, une sorte de mise hors circuit des composés toxiques et par suite, un mécanisme de protection des récepteurs sensibles. Cela est vrai seulement en partie, car il ne faut pas oublier qu'il existe, dans des organes d'une extrême importance biologique (cerveau, foie, cortico-surrénale...), par ailleurs particulièrement sensibles à l'action des dérivés organiques halogénés, des lipides de constitution qui peuvent aecumuler ces toxiques. Ceux-ci, d'autre part, peuvent être libérés des réserves adipeuses, à l'occasion de

la mobilisation de ces dernières, en particulier au cours du jeûne ou de l'amaigrissement sous des influences diverses, et agir alors sur les récepteurs sensibles en provoquant l'apparition de symptomes toxiques ([105-256]).

Les constatations expérimentales montrent bien d'ailleurs que les insecticides organo-halogénés sont typiquement des poisons cumulatifs. Nous citerons à cet égard l'exemple du DDT (dichlorodiphényltrichloréthane ou chlorophénothane), dont la DL50 per os chez le Rat se situe aux environs de 250 mg/Kg de poids corporel. Or, l'administration au même animal, pendant 7 ou 8 mois, de régimes renfermant seulement 5 à 10 mg par Kg de l'insecticide, soit une absorption journalière ne dépassant pas 0,1 à 0,2 mg, provoque l'apparition d'anomalies histologiques et même de lésions au niveau du foie ([21]), les mâles étant considérablement plus sensibles que les femelles, d'après Ortega, Hayes et coll. ([250]). Il faut citer également à cet égard les travaux de Schillinger et coll. ([286]), qui, soumettant des singes à l'administration prolongée per os de DDT, à la dose de 0,2 mg/Kg de poids corporel, ont observé, après 7 à 9 mois, la production d'hépatites et, au bout d'un an, de l'hépatomégalie et de l'hyperglycémie.

Le système nerveux central peut être également atteint. A cet égard, Kastli ([166]) a obtenu d'intéressantes données. Nourissant des vaches avec des fourrages souillés de petites quantités de DDT ou d'hexachlorocyclohexane, il n'a pas observé de symptomes d'intoxication, mais en revanche, chez les veaux allaités par ces animaux, sont apparus, au bout de 6 à 8 semaines, des troubles nerveux allant jusqu'à des convulsions. Ces constatations mettent en évidence, en même temps que l'élimination des pesticides organo-halogénés par la glande mammaire, déjà vue par de nombreux auteurs ([166]), la très grande sensibilité des jeunes à l'absorption répétée de petites doses, avec les répercussions que cela peut entraîner pour les nourrissons alimentés avec des laits souillés de résidus d'agents chimiques. C'est évidemment par suite de la teneur relativement élevée en matières grasses que le lait constitue un excellent véhicule des pesticides organo-halogénés. Il n'est pas étonnant, dans ces conditions, qu'on puisse retrouver ces derniers concentrés dans le beurre. Dans celui provenant des vaches nourries pendant trois mois avec du fourrage renfermant 7 à 8 mg/Kg de DDT, les taux ont pu atteindre 65 mg/Kg. Le DDT peut également s'accumuler dans le jaune de l'oeuf, comme l'ont montré les observations faites sur des oeufs de poules nourries avec des farines de luzerne provenant de champs traités par le DDT ([51]). Toutes ces constatations offrent un grand intérêt, car les matières grasses favorisent l'absorption du DDT et des pesticides liposolubles en général.

La liposolubilité, dont nous venons de souligner l'importance pour expliquer les effets cumulatifs de nombreux représentants du groupe des pesticides, joue également un très grand rôle dans la rétention, spécialement au niveau du système nerveux central, de composés *organo-métalliques*, tels que certains *dérivés organiques de l'étain, du plomb et du mercure*. Les *organo-mercuriels*, utilisés comme fongicides en agriculture, doivent, pour cette raison, être choisis avec un grand soin et l'emploi de ceux qui ont été retenus doit être rigoureusement limité à des usages bien déterminés (en France uniquement pour la conservation des semences).

Mais les *affinités chimiques* interviennent beaucoup plus fréquemment encore que les propriétés physiques pour expliquer les phénomènes cumulatifs.

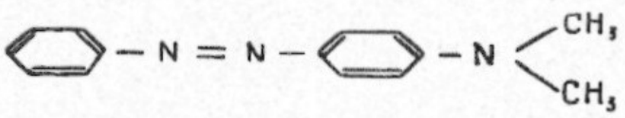
Un exemple significatif à cet égard est fourni par les *dérivés fluorés*. Si nous considérons le fluorure de sodium, alors qu'une dose dépassant largement le gramme est nécessaire pour provoquer chez l'Homme une intoxication aiguë grave, il suffit, lorsqu'elles sont répétées, de doses journalières de quelques centigrammes pour provoquer, par suite de la rétention du fluor, en raison de sa fixation sur les tissus calcifiés sous forme de complexes fluorophosphocalciques insolubles, une intoxication à long terme, dite « fluorose », caractérisée par des lésions dentaires et osseuses et des phénomènes sévères de cachexie ([333, 334, 335, 337, 339, 344, 347]). C'est la raison pour laquelle la concentration d'ion fluor dans les eaux d'alimentation ne doit pas dépasser 1,5 mg/litre et c'est là une donnée fondamentale à ne pas oublier lorsqu'on fait appel à la fluoruration des eaux pour la prévention de la carie dentaire.

C'est également en raison de leur affinité pour le tissu osseux que certains radio-éléments appartenant à la famille des alcalino-terreux (radium, radio-isotopes du baryum et du strontium..., ou même à celle des actinides (thorium, uranium, plutonium...) sont particulièrement dangereux, car cette localisation conditionne la possibilité pour ces vecteurs de rayonnements ionisants d'exercer leurs effets nocifs, non seulement au niveau de l'os lui-même (nécroses, sarcomes osseux), mais encore et surtout de la moelle osseuse (leucémies, anémies, leucopénies, etc...). A cet égard, on ne saurait trop souligner les risques de sévères intoxications à long terme que comporte l'exposition de l'Homme au trop fameux ^{90}Sr, présent dans les déchets des centrales nucléaires et dans les retombées radioactives consécutives aux essais d'engins nucléaires, en raison de la longue période physique (28 ans environ) de ce radio-élément, associé à une longue période biologique (18 ans environ), conditionnant sa solide rétention dans l'organisme. Le danger est d'autant plus grand que la contamination éventuelle de la chaine alimentaire par

un élément ayant la même destinée métabolique que le calcium se traduit par une transmission des végétaux pollués à l'homme, et spécialement aux enfants, par l'intermédiaire du lait.

B - Sommation des effets.

La notion de sommation des effets a été introduite par Druckrey [80] à la suite des observations concernant l'activité cancérogène hépatique chez le Rat du p.diméthylaminoazobenzène (PDAB), ou jaune de beurre,



P. diméthylaminoazobenzène (Jaune de beurre)

en fonction de la dose. Cet auteur a administré le colorant azoïque per os, à des doses journalières maintenues constantes pendant toute la durée de l'expérimentation mais variables pour chaque lot d'animaux. Il a vu que, comme on pouvait s'y attendre, le délai d'apparition en jours (t) des hépatomes dans chaque lot était d'autant plus court que la dose journalière (d) était plus forte; mais sa constatation fondamentale a été que la dose totale nécessaire (dt) pour faire apparaître les tumeurs hépatiques était pratiquement constante (de l'ordre de 1 g. par Rat avec la souche utilisée: BD III), quel que soit le fractionnement dans le temps, pour des durées d'expérience allant de 34 jours (dose journalière: 30 mg) à 350 jours (dose journalière: 3 mg). (Tableau I).

Tableau I

Activité cancérogène du p.diméthylaminoazobenzène en fonction de la dose chez le Rat.

Dose journalière du P. D. A. B. en mg d	Délai d'apparition des hépatomes en jours t	Dose totale D = dt (*) en mg	Nombre Rats
0,1	pas de tumeurs		155
0,3	pas de tumeurs		148
1	700	700	169
3	350	1.050	70
5	190	960	70
6	167	1.000	145
10	95	950	30
20	52	1.040	15
30	34	1.020	30

(*) La valeur du produit dt dépend de la souche de rat expérimentée; elle est, d'après Druckrey, comprise entre 350 et 1.200 mg.

Considérant que la destruction ou l'élimination du p.diméthylaminoazobenzène est pratiquement totale en une dizaine de jours au maximum (220), on pouvait s'attendre à ce que la dose totale nécessaire pour provoquer la cancérisation soit d'autant plus forte que les fractionnements ont été plus étalés dans le temps. Or, l'effet cancérogène s'est, au contraire, révélé être une fonction de la dose totale, c'est-à-dire de la somme des doses isolées. C'est ce que Druckrey et Kupfmuller ont appelé une *action de sommation*, dans l'interpretation théorique qu'ils ont donnée ultérieurement des résultats expérimentaux mentionnés et pour laquelle nous renvoyons les lecteurs à leurs publications ([81]). Je me bornerai à souligner que cette analyse les a conduits à admettre cette notion, tout à fait nouvelle en pharmacologie, que les effets de chaque dose isolée s'ajoutaient, sans aucune perte, pendant toute la vie, quel que soit le jeu des éliminations. Il y aurait *sommation totale d'effets absolument irréversibles*, comme le sont les impressions successives d'une plaque ou d'un film photographique (*).

Ce serait là une différence fondamentale avec les poisons cumulatifs tels que nous les avons définis, pour lesquels s'observe une cumulation des doses retenues dans l'organisme mais non de celles qui ont été éliminées par excrétion ou dégradation métabolique. Il est, par suite, possible, dans leur cas, en tenant compte des vitesses plus ou moins grandes d'élimination, des intervalles entre chaque dose et des concentrations nécessaires à la manifestation des effets toxiques au niveau des récepteurs physiologiques, de fixer, avec une approximation suffisante, des *doses seuils* en deça desquelles il n'y a plus de danger. Je prendrai un exemple pour concrétiser ma pensée. Nous avons vu que le plomb était un poison cumulatif. Dans les conditions de la vie courante, l'homme absorbe journellement, en raison de la présence de traces de plomb dans les aliments et dans l'ambiance générale, une quantité de l'élément de l'ordre de 0,5 mg dans une ville comme Paris. Cette quantité est suffisamment petite pour être éliminable et, par suite, ne pas donner lieu à des effets cumulatifs. Ce n'est qu'à partir d'une quantité de 1 mg par jour que, la capacité d'élimination étant dépassée, on peut craindre de tels effets pouvant entraîner, au bout d'un certain temps, les symptomes caractéristiques du saturnisme. Il est donc possible, dans le cas du plomb, de fixer une dose seuil à ne pas dépasser et, par suite, une dose journalière tolérable pour une absorption prolongée.

(*) Cette comparaison nous paraît la plus adéquate pour bien faire comprendre la notion de sommation. Si, dans des conditions de luminosité, et avec une ouverture de diaphragme bien déterminée, un temps d'exposition de 1 seconde est nécessaire pour obtenir, après révélation, une image d'une qualité déterminée, peu importe, avec un appareil supposé parfait, que l'impression soit obtenue par une pose d'une seconde, dix poses de 10ème de seconde ou 100 poses de 1/100ème de seconde.

Au contraire, dans le cas des substances cancérogènes, bien qu'il existe indéniablement un rapport entre les doses appliquées et les réponses obtenues (pourcentage de tumeurs provoquées ou temps nécessaire pour les provoquer), il est beaucoup plus difficile de fixer des doses-seuils, car, si l'on admet la persistance de l'effet après élimination de la substance qui en est responsable (*cessante causa, non cessat effectus*), même des doses infimes peuvent être dangereuses si leur absorption se répète pendant une période suffisamment longue ou si un temps suffisant s'écoule pour leur permettre de manifester leur activité. Le facteur temps a en effet une importance considérable dans l'action des substances cancérogènes.

Druckrey ([82]) en a précisé l'intervention dans des expérimentations effectuées sur le Rat avec le p.diméthylaminoazobenzène, au cours desquelles l'arrêt de l'administration du colorant était intervenu à des délais divers avant l'obtention de la dose totale effective pour une administration continue. Dans ce but, il a soumis des lots de rats, âgés de 100 jours, à l'administration de 5 mg par jour de p.diméthylaminoazobenzène, continuée jusqu'à ce que la somme des doses journalières atteigne 200, 300, 500, 700 et 1.000 mg. L'observation ultérieure des animaux a permis de constater l'apparition de cancers à retardement (hépatomes et cancers des voies biliaires), le délai d'apparition après l'arrêt du traitement, dit temps de latence, étant inversement proportionnel à la dose totale administrée, cependant que le pourcentage des tumeurs lui est directement proportionnel.

Le tableau II rassemble les résultats obtenus :

Tableau II

Action à retardement du p.diméthylaminoazobenzène
(expériences de Druckrey et coll. 1952-1954)

Dose journalière de P. D. A. B. en mg (d)	Durée de l'administration en jours (t_1)	Dose totale administrée $D = dt_1$	Temps de latence t_2	Délai d'apparition des tumeurs $t_1 + t_2$	Pourcentage d'hépatomes
5	200	1.000	0	200	81
5	140	700	110	250	80
5	100	500	240	340	49
5	60	300	280	340	26
5	40	200	320	360	20

Les commentant, Druckrey pense qu'ils traduisent deux processus successifs :

1) Un processus causal, représentant l'action immédiate et irréversible de l'agent cancérogène à l'échelle cellulaire.

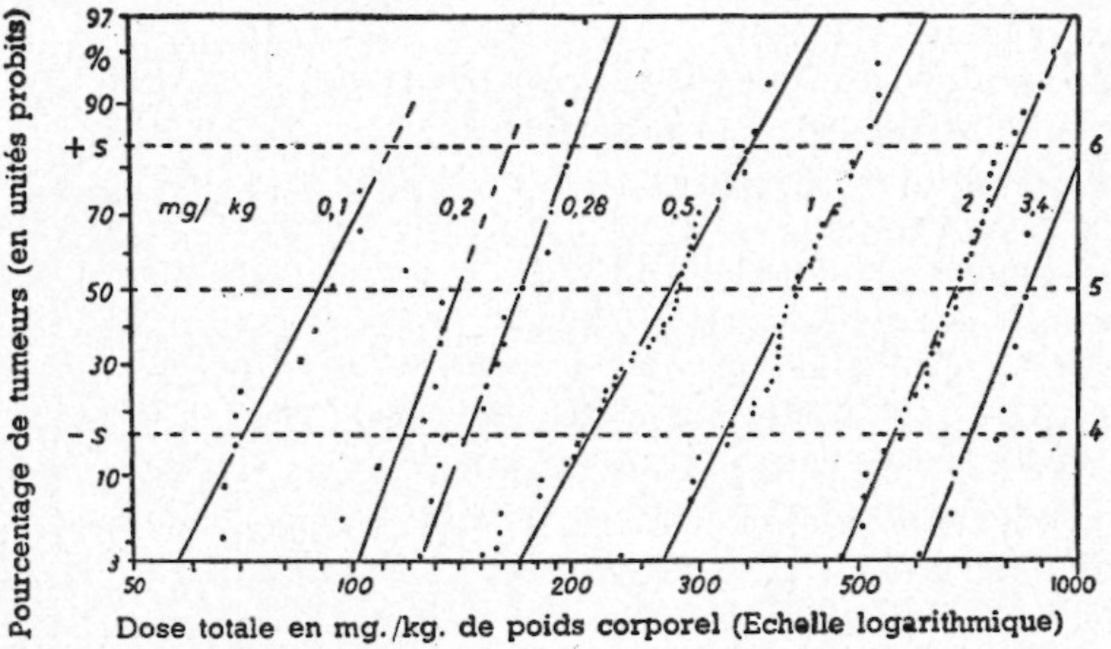
2) Un processus de multiplication des cellules devenues cancéreuses, processus de croissance autonome progressant de façon continue et exponentielle, même si l'exposition est stoppée et si l'agent cancérogène a disparu.

L'auteur souligne que, dans le cas des petites doses pour lesquelles le temps de latence est le plus élevé, la fréquence de tumeurs observées dépend beaucoup de la durée de vie des animaux. Soit deux lots d'animaux d'une durée de vie moyenne différant seulement de quelques semaines, soumis à la dose totale de 200 mg par animal, à raison de 1 mg par jour, dans les conditions précédemment indiquées. La fréquence des hépatomes a été 12 fois plus élevée pour le lot à vie moyenne la plus longue (12 p. 100 contre 1 p. 100). Druckrey précise que le temps maximal de latence observé dans ses expériences sur le Rat était de 800 jours, ce qui correspond à environ 70 années chez l'Homme.

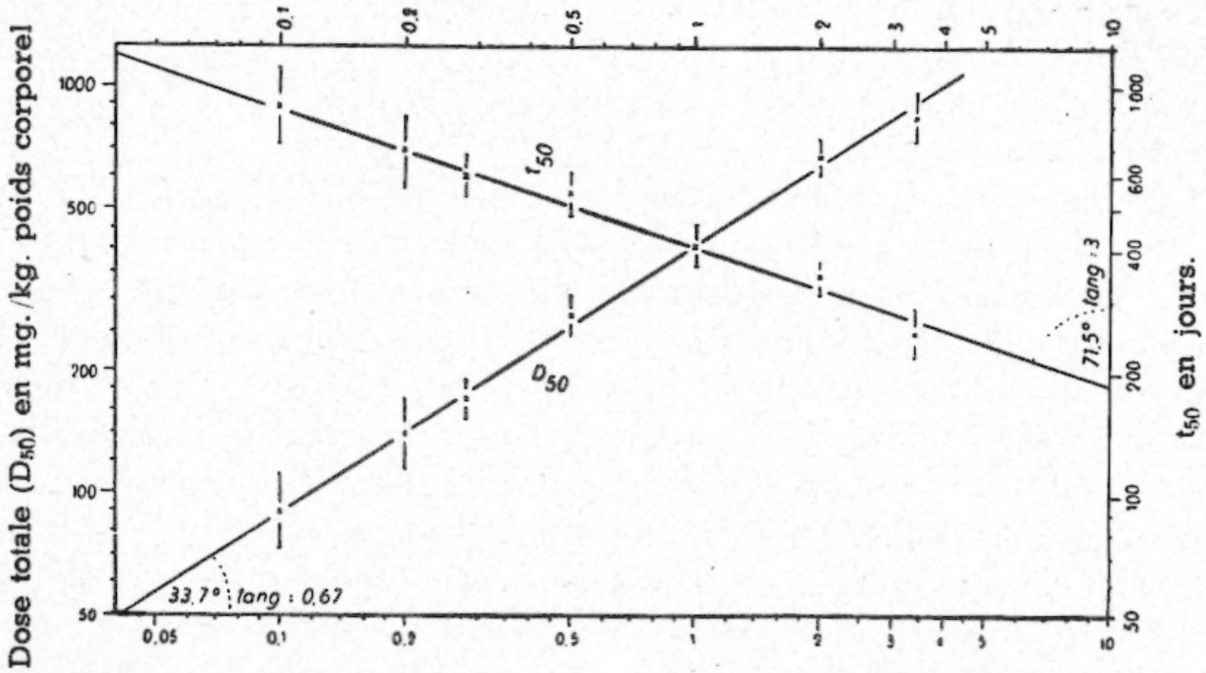
Il faut noter que des résultats dans le même sens que ceux de Druckrey ont été obtenus par Glinos et Bucher ([122]) et aussi par Hecht ([144]). Ces constatations, dont Druckrey tire toute une série de considérations théoriques ayant un grand intérêt sur le plan biologique, sont particulièrement à prendre en considération dans le cas des cancérogènes de faible activité exigeant, pour manifester leurs effets, une exposition très prolongée. Elles ne font d'ailleurs que confirmer, en la précisant, cette notion, bien établie par les observations cliniques, de la possibilité d'apparition de cancers sous l'influence d'agents exogènes chez l'Homme parfois très longtemps après la suppression de l'exposition aux agents nocifs ([338]).

Druckrey et ses collaborateurs ont cherché à confirmer les constatations faites avec le p.diméthylaminoazobenzène en expérimentant avec d'autres substances cancérogènes. Ils ont soumis, tout d'abord, à l'investigation le p.diméthylaminostilbène ([290]) dont l'action cancérogène avait été mise en évidence par Haddow et ses collaborateurs ([135]). Ce composé présente deux avantages importants pour ce type de recherches. Il est environ 50 fois plus actif que le p.diméthylaminoazobenzène et, par ailleurs, il provoque, chez le Rat, un cancer tout à fait particulier, l'épithélioma du conduit auditif. Les expérimentations ont été poursuivies de 1955 à 1960 sur une souche de rats BD II parfaitement définie du point de vue génétique. Elles ont porté sur 7 lots d'environ 40 rats, âgés de 100 jours au début de l'expérience, soumis respectivement aux doses journalières suivantes, calculées en mg/Kg de poids corporel pour obtenir une précision plus grande : 3,4; 2; 1; 0,5; 0,28; 0,2 et 0,1 mg. Les résultats obtenus, après administration du produit prolongée jusqu'à l'apparition des tumeurs, ont été traduits par un graphique où figurent, en ordonnées les pourcentages de tumeurs en unités probits et en abcisses les loga-

rithmes des doses totales pour chacun des lots. Pour tous les dosages, on obtient ainsi une relation linéaire (graphique n° 1).



Graphique n° 1. - Relation entre la dose et l'action dans la production de cancers du conduit auditif par le p.diméthylaminostilbène chez le Rat. (H. Druckrey, D. Schmahl et Coll., 1956-1960).



Relations entre la dose journalière, la dose totale (D_{50}) et le temps d'induction (t_{50}) dans la cancérisation par le p.diméthylaminostilbène chez le Rat. (H. Druckrey, D. Schmahl et Coll., 1956-1960).

Ce graphique montre que la dose totale nécessaire pour produire la cancérisation dans les différents lots est d'autant plus basse que la dose

journalière est plus petite (*). Ceci est encore vrai pour la dose extrêmement minime de 0,1 mg/Kg, dose qui est à peine détectable, par l'analyse physique ou chimique, dans le régime des rats. Dans ce cas, le temps d'induction des tumeurs a été de 900 jours, c'est à dire que le traitement a été prolongé pendant toute la durée de vie des rats (soit 1.000 jours) et que la cancérisation n'est apparue qu'à la fin de l'expérience. Ces résultats montrent bien que les effets de toutes les doses successives, même les plus petites, demeurent complètement irréversibles pendant toute la vie et que ces effets s'ajoutent jusqu'à la manifestation finale de la malignité. Sinon, plus la dose journalière était faible, plus la dose totale nécessaire à l'apparition des tumeurs aurait dû être élevée.

Les valeurs moyennes des doses totales nécessaires pour provoquer l'apparition des tumeurs chez 50% des rats (D_{50}) et des temps d'induction correspondants (t_{50}) observés dans les différents lots sont rassemblés dans le tableau III:

TABLEAU III

Relations entre la dose et l'effet dans la production de cancers du conduit auditif par le p.diméthylaminostilbène chez le Rat

[H. DRUCKREY, D. SCHMAHL et collaborateurs ([83], [290], [83bis], et [88])]

d Dose journalière en mg/kg de poids corporel	t_{50} Temps nécessaire à l'apparition des tumeurs chez 50 p. 100 des animaux en jours	D_{50} Dose totale nécessaire pour provoquer des tumeurs chez 50 p. 100 des animaux en mg/kg de poids corporel
3,4	250	852
2,0	342	685
1,0	407	407
0,5	560	280
0,28	607	170
0,2	675	135
0,1	900	90

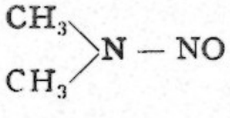
On voit que, pour la dose journalière la plus forte de 3,4 mg/Kg, la dose totale nécessaire est de 850 mg/Kg contre 90 mg/Kg, soit sensiblement 10 fois moins, pour la dose la plus faible de 0,1 mg/jour.

En portant les chiffres du tableau sur un graphique à coordonnées logarithmiques, on obtient une relation remarquablement linéaire entre la dose totale et la dose journalière. Ceci montre qu'il est impossible de

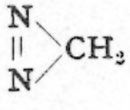
(*) Cette observations avait déjà été faite avec le p.diméthylaminoazobenzène, comme il est facile de le constater en se reportant au tableau I, p. 9. On y voit en effet que, pour le lot de rats soumis à une dose journalière de 1 mg de PDAB, la dose totale nécessaire pour faire apparaitre les hépatomes est seulement de 700 mg, au lieu de 950 à 1050 mg pour les lots soumis à des doses journalières allant de 3 à 30 mg.

calculer, par extrapolation, une dose seuil pouvant être considérée comme inoffensive pour une exposition continue, car, à la lumière des résultats obtenus, il apparait que le seul facteur limitant dans la production du cancer est la durée de vie. On pourrait penser que, dans le cas des doses les plus élevées, la résorption est incomplète. Mais DRUCKREY et ses collaborateurs ont vérifié que, chez les animaux soumis à l'administration de 4 mg/Kg de poids corporel de p.dimethylaminostilbène, on ne retrouvait pas trace du produit dans les fèces, malgré la mise en oeuvre d'une technique ultra-sensible de caractérisation (spectrométrie après extraction par le cyclohexane). Par ailleurs, un effet de saturation ne peut être invoqué, car la solubilité du cancérogène dans le sérum sanguin atteint 45 mg/litre.

Plus récemment, DRUCKREY et ses collaborateurs ([88]) ont expérimenté avec les di-alcoyl-nitrosamines, composés hautement cancérogènes présentant l'avantage d'être solubles dans l'eau et, par suite, d'être faciles à administrer et à résorber. La découverte de l'action cancérogène, hépatique, rénale et pulmonaire, du premier terme de cette série, la diméthylnitrosamine :



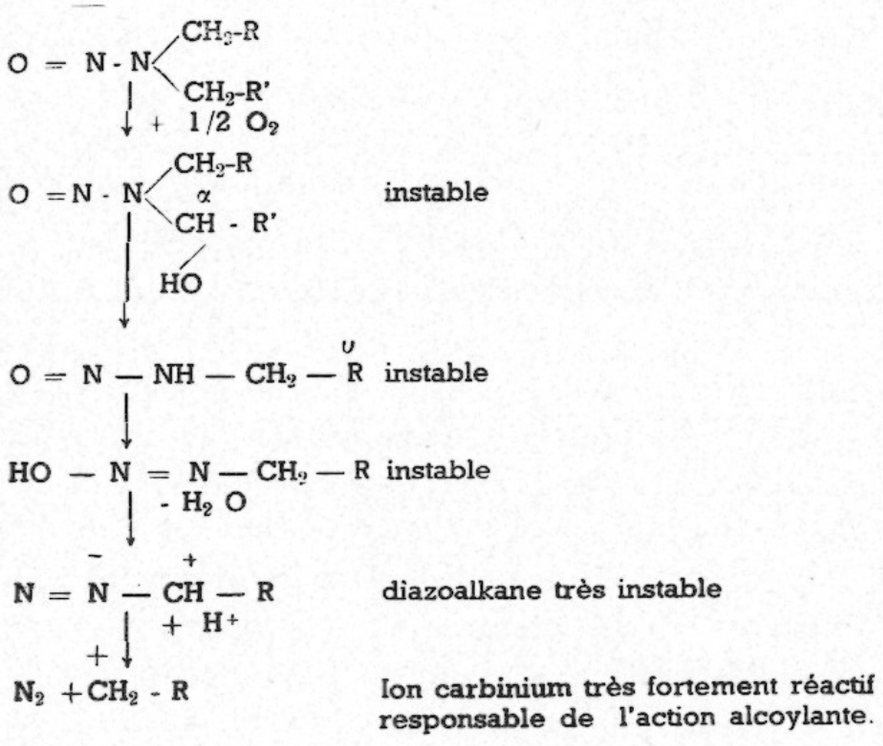
est due à BARNES et MAGEE ([22]). Elle a été confirmée, entre autres, par ZAK et ses collaborateurs ([105]). Le mécanisme d'action biochimique parait être la séparation oxydative, au niveau du foie, d'un des groupes CH_3 ([209]) avec formation de diazométhane



instable ([143]), dont l'activité cancérogène a été démontrée, chez la souris et chez le rat par Miss SCHOENTAL ([293]) et semble bien dépendre de son action alcoylante s'exerçant, d'après FARBER et MAGEE ([98-209bis]), au niveau de la fraction guanine des acides nucléiques (formation de méthyl 7.guanine).

Entre temps, SCHMAHL et collaborateurs ([290bis]) ont obtenu des cancers du foie, chez le Rat, avec la diéthylnitrosamine administrée dans l'eau de boisson. Il est hautement probable que le métabolisme et le mécanisme d'action de cette substance sont superposables à ceux de la diméthylnitrosamine, par formation intermédiaire de diazoéthane alcoylant. De façon plus générale, d'après les résultats expérimentaux de DRUCKREY et ses collaborateurs ([87]), dans la série des nitrosamines, seuls se sont révélés cancérogènes les composés susceptibles de donner naissance à

des diazoalkanes instables par dégradation métabolique selon le schéma général suivant :



En raison de sa haute activité cancérogène hépatique jointe à son hydrosolubilité, la diéthylnitrosamine était particulièrement indiquée pour une étude des rapports entre la dose et l'effet. Druckrey et ses collaborateurs ([88]) l'ont administrée à 6 lots de rats, en solution dans l'eau de boisson, aux doses journalières respectives suivantes : 9,6; 4,8; 2,4; 1,2; 0,6; 0,3 mg/Kg de poids corporel.

Les résultats obtenus (nombre de tumeurs, D_{50} et t_{50}) sont condensés dans le tableau IV.

Tableau IV

Cancérisation hépatique par la N.N. diéthylnitrosamine chez le rat - Le temps d'induction et la dose totale nécessaire dépendent de la dose journalière

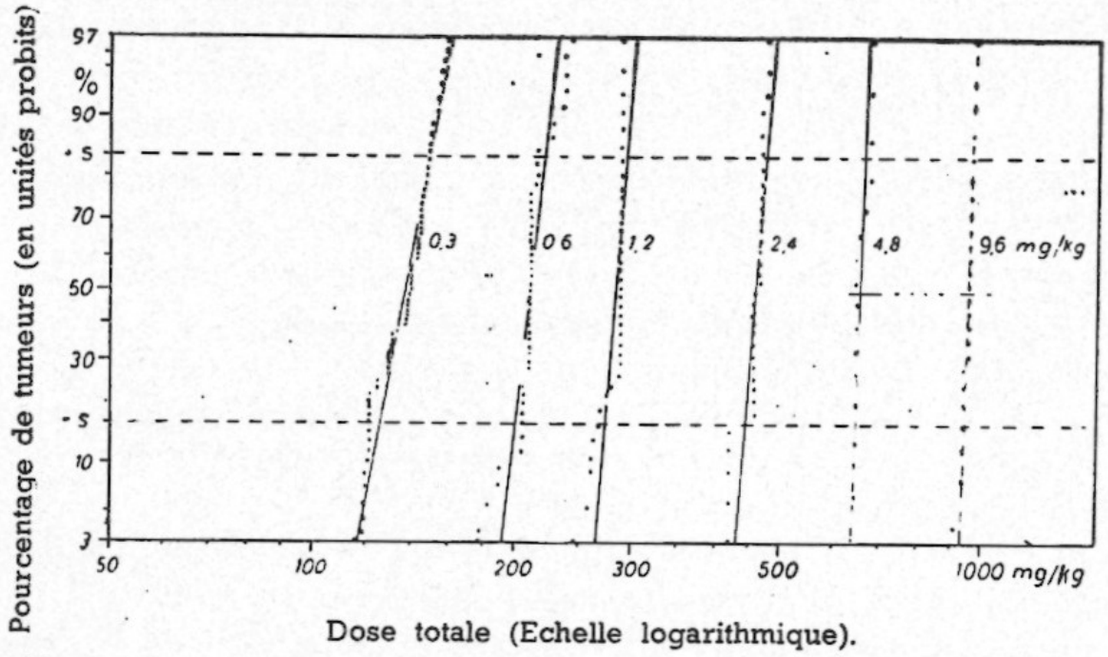
(H. Druckrey et coll. 1961)

d Dose journalière mg/kg	Nombre d'animaux survivants lors de l'apparition de la première tumeur	Nombre de cancers	D_{50} en mg/kg de poids corporel	t_{50} en jours
9,6	25	25	963	104
4,8	25	25	660	137
2,4	34	34	460	192
1,2	36	36	285	238
0,6	50	49	213	355
0,3	68	67	137	457

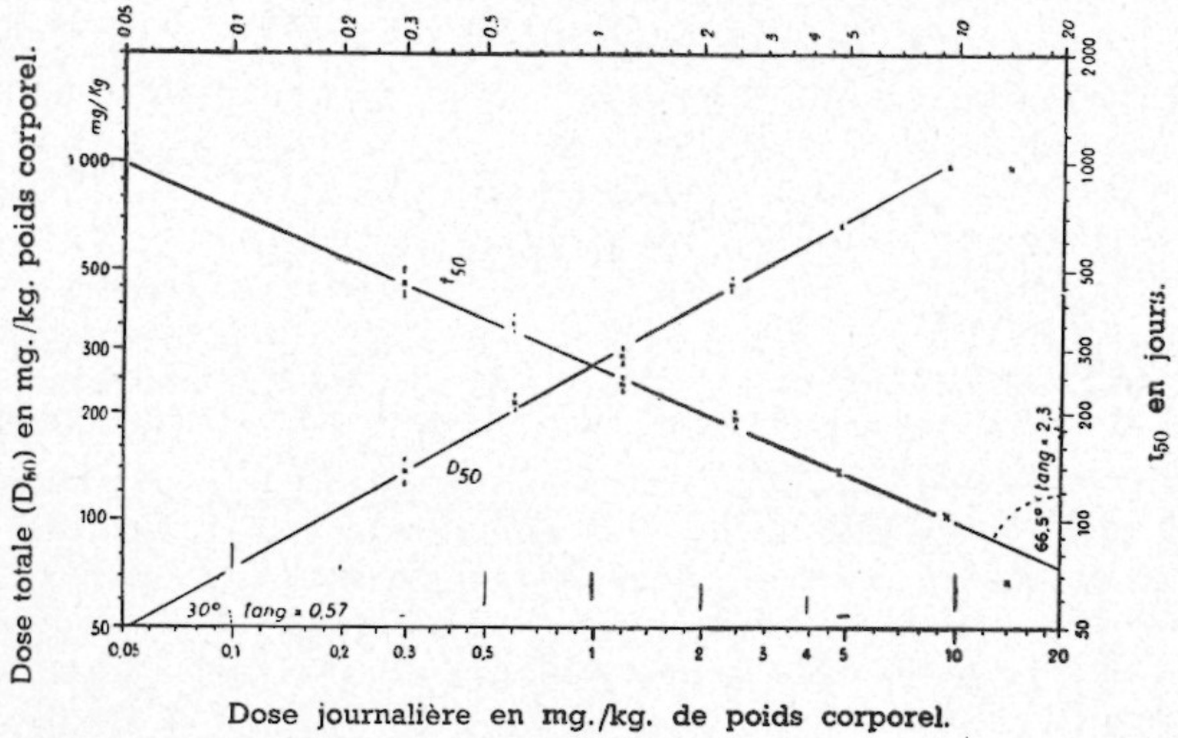
Sa lecture montre :

a) que le pourcentage de tumeurs obtenu est égal à ou très proche de 100;

b) que, là encore, la dose totale nécessaire pour provoquer l'apparition de cancers du foie chez 50% des animaux traités est d'autant plus faible que la dose journalière est elle-même plus faible, ce qui confirme les constatations faites avec le p.diméthylaminostilbène. Mais l'observation la plus frappante, matérialisée dans le graphique n° 2, est l'extraor-



Graphique n° 2. - Relation entre la dose et l'action dans la production de cancer du foie par la N.N. diethylnitrosamine chez le rat. (H. Druckrey et Coll., 1961).



Relations entre la dose journalière, la dose totale (D_{50}) et le temps d'induction (t_{50}) dans la cancérisation hépatique par la N.N. diéthylnitrosamine chez le rat. (H. Druckrey et Coll., 1961).

dinaire précision du temps d'induction des tumeurs pour tous les animaux traités. On peut, avec une souche d'animaux donnée, et toutes choses égales d'ailleurs, prévoir au début de l'expérience, à quelques jours près, le temps d'apparition des tumeurs. Il est logique d'en déduire que le mécanisme de cancérisation est un mécanisme direct.

En résumé, la notion fondamentale mise en évidence par les recherches de Druckrey et de son équipe est l'irréversibilité des effets de toute dose, si minime soit-elle, d'agent cancérogène. A cette notion, s'est ajoutée celle d'une diminution de la dose totale nécessaire à l'induction de la malignité avec le fractionnement dans le temps sous forme de petites doses.

Les résultats obtenus par divers auteurs (117-40) dans l'étude de l'action cancérogène des rayonnements ultraviolets chez le Rat ou la Souris plaident également, d'après Druckrey et Schmahl, en faveur de la sommation d'effets irréversibles. Les résultats obtenus avec les rayons X (315) et les rayonnements des corps radio-actifs [^{90} Sr, en particulier (119)] dans la production de cancers ou de leucémies n'ont pas toujours été concordants, mais beaucoup d'entre eux (315-119-10) viendraient également, selon Druckrey et Schmahl, à l'appui de la théorie de la sommation des effets.

De telles constatations mettent clairement en évidence les risques particulièrement sévères que comporte l'exposition de l'homme aux agents cancérogènes et *tout spécialement aux petites doses longtemps répétées*. Le danger est d'autant plus grand qu'on ne peut exclure, a priori, la possibilité d'une sommation des effets d'agents cancérogènes de nature différente.

Les résultats obtenus par Nakahara et Furuoka (233), dans l'application successive sur la peau de la Souris de méthylcholanthrène et de N.oxyde de nitro.4.quinoléine, viennent à l'appui de la réalité d'une telle éventualité, et le concept de la *syncarcinogénèse* mis en avant par Bauer (23) se trouve ainsi matérialisé.

Il faut, enfin, ne pas oublier l'existence de nombreux facteurs « co-cancérogènes » ou « promoteurs », c'est-à-dire de facteurs qui ne sont pas cancérogènes par eux-mêmes, mais dont l'intervention, en même temps ou à la suite d'un agent cancérogène, permet à ce dernier d'exercer son activité à des doses qui, en leur absence, seraient sans effet (28, 32, 29, 30, 31, 72, 110, 231, 232, 265). Tel est le cas de l'huile de croton (87, 126) ou de certains agents surfactifs, tels que les tweens. C'est ainsi que le tween 60 (monostéarate de polyoxyéthylène-20-sorbitane) préconisé comme émulsifiant dans diverses denrées alimentaires et aussi pour empêcher le phénomène d'efflorescence du chocolat, fait apparaître localement des tumeurs malignes lorsqu'il est appliqué sur la peau de

la Souris préalablement traitée avec une seule dose d'hydrocarbure polycyclique cancérogène trop faible pour provoquer seule la cancérisation ([297]). Comme facteurs co-cancérogènes ou promoteurs, il faut également penser à la présence éventuelle, au niveau des téguments ou des muqueuses (y compris les muqueuses digestives), d'irritations ou de lésions. Dans ce domaine, beaucoup de recherches restent à faire pour pouvoir comprendre et interpréter, de façon claire, les faits expérimentaux.

A propos des actions promotrices, on peut en tout cas souligner que beaucoup des faits observés plaident également en faveur de l'irréversibilité des effets des agents cancérogènes, puisque, parfois, c'est très longtemps après l'exposition à ces agents (1 an chez le Rat, correspondant à environ 30 années chez l'Homme, dans une expérimentation de Berenblum et Shubik ([31]) avec l'huile de croton), que l'activité d'un promoteur peut manifester son efficacité.

C - Effets de toxicité ou de nocivité à Long Terme par des mecanismes indirects.

Dans le cas des substances entrant en contact avec les denrées alimentaires ou, d'une façon plus générale, absorbées par voie digestive en même temps que les aliments, divers mécanismes de toxicité indirecte doivent également être pris en considération.

1) *Destruction de principes alimentaires essentiels.*

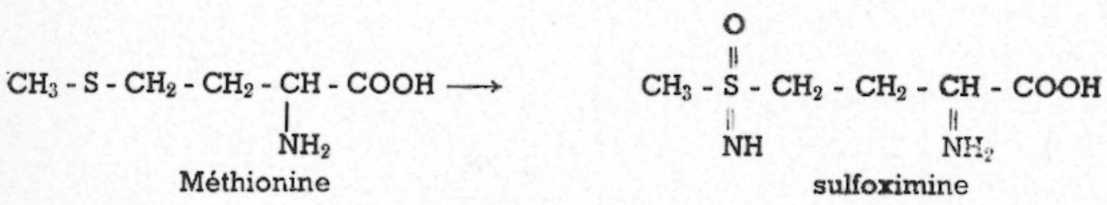
C'est ainsi que, comme l'ont montré Morgan ([228]), puis Pavcek ([258]), l'anhydride sulfureux inactive la vitamine B_1 que les agents oxydants (H_2O_2, peroxydes et persels par exemple) détruisent au moins partiellement les vitamines A, E et C et peuvent ne pas être sans action sur les acides gras non saturés. C'est ainsi également que les bromacétates bloquent les groupements thiols physiologiquement indispensables et que l'eau oxygénée, utilisée dans certains pays comme agent conservateur du lait, détruirait, au moins partiellement, les groupements thiols ([204]) et aussi la méthionine et le tryptophane de la caséine ([295]). C'est ainsi encore que des fumigants insecticides ou bactéricides, tels que le bromure de méthyle ([395bis]) ou l'oxyde d'éthylène ([412]) réagissent sur divers groupements fonctionnels des protéines et provoquent l'inactivation de composés physiologiquement indispensables.

La consommation prolongée d'aliments en contact avec de tels agents, peut, en conséquence, provoquer des symptomes de carence, si

la proportion de ces aliments dans le régime est suffisamment élevée. C'est ainsi que Fitzhugh et ses collaborateurs ([104]) ont observé, chez le rat soumis à l'ingestion prolongée (1 à 2 ans) de régimes additionnés de sulfite de sodium aux concentrations de 1 g/Kg (soit, en anhydride sulfureux, 0,615 g/Kg) et plus, des retards de croissance auxquels s'oppose l'adjonction de doses convenables de vitamine B_1. La nocivité tient ici à une diminution de la valeur nutritive (*).

2) *Formation de composés toxiques à partir de composés présents dans les aliments.*

C'est ainsi que le trichlorure d'azote, Cl_3N, très largement utilisé à une certaine époque dans les pays anglosaxons, sous le nom d'agène, comme agent de blanchiment et de maturation des farines, à des concentrations ne présentant pas de risques de toxicité à long terme en ce qui concerne le composé lui-même, transforme, comme l'ont montré Bentley et ses collaborateurs ([27]), la méthionine en sulfoximine, responsable des



convulsions épileptiformes observées par Mellanby ([218]) et Newel et ses collaborateurs ([238]), chez le Chien nourri avec des farines agénisées. Certains prétendaient que l'action de la sulfoximine sur le système nerveux central était limitée à certaines espèces animales et ne s'exerçait pas chez l'homme. Mais, récemment, Krakoff ([183]), utilisant cette substance, à la suite d'observations faites chez le Rat, comme agent anticancéreux chez l'Homme, a constaté la production, sous l'influence d'une dose journalière de 0,2 à 0,4 g. par voie orale, de phénomènes d'agitation accompagnés d'une sensation de désorientation et d'hallucinations. Ces symptomes ont persisté quelques jours après l'arrêt du traitement et, chez un sujet, leur apparition a pu être empêchée par administration simul-

(*) Lockett et Natoff ([199]), administrant à des rats une concentration de 0,70 g. de bisulfite de sodium par Kg de régime, mais sous forme de solution dans l'eau de boisson, n'ont observé aucun symptôme toxique. Il ne faut toutefois pas oublier que, lorsque l'anhydride sulfureux est ajouté aux boissons alcoolisées peut intervenir une destruction de la vitamine B_1 présente dans ces boissons, destruction pouvant avoir alors des conséquences néfastes si l'on rappelle le rôle joué par la vitamine B_1, à côté des autres vitamines du groupe B, dans la dégradation oxydative de l'alcool et aussi le fait bien connu que, chez les alcooliques, on observe souvent une décharge urinaire de vitamine B_1 qui augmente encore la sensibilité de ces sujets à une carence en ce facteur essentiel.

tanée d'une forte dose de méthionine. C'est ainsi également que la toxicité de la chloramine T, parfois utilisée pour éliminer les odeurs indésirables des fromages, est augmentée chez le lapin, lorsqu'on l'associe à des amino-acides ([296]). C'est ainsi, enfin, que l'extraction de certaines matières d'origine végétale dans l'industrie par certains solvants doués de capacités réactionnelles, en vue de la fabrication d'aliments pour l'homme ou les animaux, peut n'être pas sans danger. Un bel exemple en est fourni par les accidents d'anémie aplastique provoqués chez le bétail par des farines de soja, dont l'extraction par le trichloréthylène ($CCl_2 = CHCl$) amène la formation de S-(dichlorovinyl)-l-cystéine toxique ([208bis, 260bis, 208 et 208]).

3) *Action inhibitrice sur les bactéries de la flore intestinale élaboratrices de vitamines du groupe B ou de vitamine K.*

On peut craindre un tel effet avec les antiseptiques en général et surtout avec les antibiotiques.

4) *Influence sur la résorption dans le tractus digestif de principes nutritifs ou de substances associées.*

Une telle influence peut s'exercer en des sens opposés. C'est ainsi que les huiles minérales entravent la résorption des vitamines liposolubles, car, n'étant pas digestibles, elles conservent leur pouvoir solvant intact et retiennent, au moins partiellement, ces vitamines qui sont alors éliminées par les fèces au lieu d'être absorbées.

C'est ainsi également que les agents dits surfactifs, qui ont comme propriété commune d'abaisser la tension superficielle, interviennent pour favoriser la résorption aussi bien de substances nutritives que d'autres substances. C'est par un tel mécanisme que les sels biliaires jouent un rôle essentiel dans l'absorption digestive des lipides et de leurs produits de dégradation par les enzymes de l'intestin. Il n'est pas exclu que l'introduction dans les aliments d'agents surfactifs de synthèse puisse rendre possible la résorption d'autres additifs associés, certains colorants du groupe du triphénylméthane par exemple, qui, en leur absence, ne seraient pas résorbés. Une telle éventualité doit, à mon avis, être prise en considération pour évaluer les risques de manifestation de certaines potentialités toxiques. Les observations de Lish et Weikel ([198ter]) et de Barnmann et Stanisic ([47bis]) concernant la résorption accrue, au niveau du colon ou de l'intestin grêle isolés de rats de colorants tels que le Rouge de phénol ([198ter, 47bis]), le Ponceau 6 R et le Vert Lumière SF ([198ter]) sous l'influence de surfactifs anioniques s'inscrivent en faveur de cette manière

de voir. Des recherches approfondies dans cette direction me paraissent très désirables.

* * *

Ayant ainsi examiné les principaux facteurs susceptibles de conditionner l'éventuelle manifestation d'effets de toxicité à long terme, il me parait important de souligner que, souvent, il n'existe pas de relation prévisible entre ces effets et ceux de toxicité aiguë. Une substance possédant une toxicité aiguë élevée peut être, à doses suffisamment petites, pratiquement dépourvue de toxicité chronique, mais l'inverse est souvent vrai.

Les agents chimiques cancérogènes les plus actifs, tels que le benso.3.4.pyrène ou l'acetylamino-2-fluorène, ne possèdent ainsi qu'une toxicité aiguë et une toxicité subaiguë relativement faibles. Si on s'était borné à déterminer ces dernières, on aurait complètement méconnu leur redoutable nocivité. Un autre exemple significatif est celui des isomères de l'hexachlorocyclohexane. Si, du point de vue de la toxicité aiguë, l'isomère γ (lindane) est de beaucoup le plus toxique (DL_{50} per os chez le Rat de l'ordre de 125 mg/Kg de poids corporel), c'est, en revanche, l'isomère β qui tient de loin la tête, du point de vue de la toxicité à long terme. Alors qu'il est pratiquement impossible de tuer un Rat en lui administrant une dose unique de cet isomère (DL_{50} de l'ordre de 6000 mg/Kg de poids corporel), il suffit de soumettre, pendant 8 à 9 mois, le même animal à un régime n'en renfermant que 10 mg/Kg (au lieu de 100 mg/Kg pour le lindane) pour provoquer une atteinte sévère du foie. On pourrait multiplier les exemples.

II - EXEMPLES DE RISQUES DE NOCIVITÉ POUVANT RESULTER DE L'ADDITION D'AGENTS CHIMIQUES AUX ALIMENTS.

Si l'on met à part les substances ajoutées aux aliments pour augmenter leur valeur nutritive, comme, par exemple, le phosphate de calcium et les vitamines B dans les farines de céréales, les vitamines A et D dans les margarines ou le lait, la vitamine C dans les jus de fruits..., ou celles tendant à leur communiquer de véritables propriétés médicamenteuses, comme, par exemple, l'iode dans le sel de cuisine ou les fluorures ou fluosilicates ajoutés à l'eau dans un but de prévention de la carie dentaire, on peut classer les additifs aux aliments en trois grands groupes principaux :

1) *Ceux dont l'emploi vise à assurer une meilleure conservation des aliments.*

A ce groupe se rattachent, entre autres, les *antiseptiques*, les *agents de salage* et les *anti-oxydants* (ou *anti-oxygène*).

2) *Ceux dont l'emploi vise à communiquer aux aliments une saveur ou une odeur agréables.*

A ce groupe se rattachent, entre autres, les *édulcorants*, les *condiments* et les *agents d'aromatisation.*

3) *Ceux dont l'emploi vise à modifier, dans un sens favorable, l'aspect et la consistance des aliments.*

A ce groupe se rattachent, entre autres, les *agents de blanchiment* et de *maturation des farines, les émulsifiants, les stabilisants* et les *colorants.*

A - AGENTS DE CONSERVATION DES ALIMENTS.

1) *Etude des antiseptiques.*

On les définit, en général, comme des produits exerçant des effets antimicrobiens et empêchant, par suite, l'altération des aliments pouvant résulter de proliférations bactériennes. On pourrait, de façon plus large. parler de proliférations de micro-organismes, car, à côté des bactéries, les levures et les moisissures peuvent intervenir pour corrompre les matières alimentaires.

Dans certains cas, la prolifération des bactéries ou moisissures peut même être à l'origine d'une contamination par des substances toxiques. Il me parait intéressant de citer à cet égard un certain nombre d'exemples.

Dans le cas des bactéries, il est bien connu que certaines espèces sont susceptibles, en raison de leur richesse en systèmes enzymatiques catalysant la décarboxylation des acides aminés, de donner naissance à des composés aminés dont l'activité pharmacodynamique et toxique peut être extrèmement marquée. Un exemple spectaculaire des risques de nocivité pouvant résulter de l'apparition de produits du métabolisme bactérien est celui de l'histamine qui, provenant de la décarboxylation de l'histidine, a été à l'origine de nombreux accidents d'intoxication alimentaire aiguë.

Dans le cas des moisissures, les informations à notre disposition sont, en général, de date beaucoup plus récente et je voudrais en présenter quelques exemples:

— I. Au Japon, le riz, et particulièrement celui importé de différents pays (Iran, Indonésie, Etats-Unis...) est souvent conservé dans de mauvaises conditions rendant possible une humidification des stocks. Il en résulte la prolifération de diverses moisissures du groupe des *Pe-*

nicilliums, communiquant au riz, en même temps qu'une coloration jaune, des propriétés toxiques. Parmi ces moisissures, il convient de mentionner: *Penicillium toxicarium*, *Penicillium islandicum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium rugulosum*, *Penicillium tardum* et *Penicillium citreoviride*.

Les premières observations d'effets toxiques concernent le riz contaminé par *P. toxicarium*. De cette moisissure fut extraite, par épuisement à l'alcool, une fraction provoquant après administration orale chez les vertébrés supérieurs, un syndrome de paralysie ascendante ressemblant au syndrome neurologique du béri-béri aigu et affectant sélectivement les neurones moteurs de la moelle épinière ([222, 365, 330, 178, 152, 223, 366, 368]). Le principe toxique est un pigment jaune de la classe des polyènes ([152]) ([153]) qui a été également isolé à partir de *P.citreoviride*.

Dans le cas du *P.citrinum*, les effets nocifs constatés consistaient, à côté d'altérations hépatiques, en glomérulonéphrite ([367-249]), avec inhibition de la réabsorption de l'eau au niveau des tubes et, par suite, augmentation de l'excrétion urinaire reproduite, chez la Souris, par Sakai ([283]) avec la citrinine, pigment isolé des filtrats de cultures de *P.citrinum* et aussi d'*Aspergillus tercus* et de quelques espèces du genre *Candidus*, possédant une DL_{50} de 60 mg/Kg par voie sous-cutanée chez le même animal.

De telles altérations rénales furent notées également après administration per os de *P.rugulosum* et de *P.tardum* ([361]), cependant que la rugulosine, pigment isolé de la première de ces deux espèces dont la constitution polyhydroxy-anthraquinonique fut fixée par Shibata et coll. ([301-302]), était reconnue susceptible de provoquer la dégénérescence graisseuse du foie.

Entre temps, en 1948, était isolé le *P.islandicum* dont la présence fut reconnue, dans les stocks de riz importé vers le Japon de divers pays très largement disséminés à la surface du globe. Il fut reconnu que la consommation du riz contaminé par cette moisissure était susceptible de provoquer, chez la Souris et le Rat, des lésions du foie consistant en atrophie aiguë, subaiguë et sub-chronique, en cirrhose et même, chez le Rat, en cancers (hépatomes) ([225]). Ces constatations sont décrites en détail dans un article d'ensemble de Miyake et collaborateurs ([226]) faisant suite à toute une série de publications antérieures dont les références sont données par ces auteurs.

Sans entrer dans les détails, pour lesquels je renvoie à la publication mentionnée, il me parait intéressant d'attirer l'attention sur la signification de telles constatations en relation avec la haute fréquence, révélée par les statistiques, de cancers primaires du foie dans les pays d'Extrême-Orient gros consommateurs de riz ([33, 91, 320, 224, 304]).

On s'explique ainsi les efforts développés en vue d'isoler du riz contaminé les principes actifs responsables de ces symptomes toxiques particulièrement redoutables. Ils ont conduit à l'isolement de deux composés actifs ([180, 369, 370, 301, 302, 303, 401, 402]).

— l'un, *la lutéoskrine*,

$$C_{30}H_{22}O_2$$

est un pigment jaune de structure polyhydroxybis-anthraquinonique, insoluble dans l'eau et soluble dans les lipides, dont les DL_{50} chez la Souris sont 147 mg/Kg par voie sous-cutanée et 220 mg/Kg per os, et qui agit lentement sur le parenchyme hépatique pour provoquer une nécrose centro-lobulaire et une dégénérescence graisseuse des cellules hépatiques restantes;

— l'autre est un polypeptide chloré, ([324] [324])

$$C_{25}H_{36}O_8N_5Cl_2$$

se présentant sous forme de cristaux incolores très solubles dans l'eau, dont les DL_{50} chez la Souris sont de 0,475 mg/Kg par voie sous-cutanée et de 6,55 mg/Kg per os, et qui provoque rapidement de sévères lésions périlobulaires.

2) Une autre moisissure toxique, l'*Aspergillus clavatus*, hôte très fréquent du sol où elle se maintient bien, a été, par sa pullulation sur des plantules de graminées cultivées en germoirs (culture hydroponique) à l'origine d'accidents graves, souvent même mortels chez le bétail ([227]).

Le principe toxique dans ce cas est la *clavacine*,

$$C_7H_6O_4$$

([112]) connue aussi sous les dénominations de claviformine, patuline, pénicidine et expansine. Cette substance provoque d'importantes manifestations pathologiques chez les animaux auxquels elle est administrée expérimentalement: oedème et hémorragies pulmonaires, troubles capillaires dans la rate, le foie et les reins, rétention urinaire, oedéme du cerveau, troubles oculaires, convulsions, inhibition de la phagocytose.

Chez des vaches intoxiquées par des plantules de blé contaminées, ont été notés, à côté d'une baisse très forte de la lactation, de l'inappétence, de l'incoordination motrice et, chez les animaux les plus attents, une extrème agitation avec tremblements. A l'autopsie des animaux ayant succombé, ont été observés des ilots de dégénérescence au niveau du foie, de l'hypertrophie de la surrénale et du rein, de la congestion

de l'intestin, du rein et du poumon. Il y aurait lieu de rechercher si le lait et la viande des animaux malades ne contiennent pas de clavacine et ne prèsentent pas, de ce fait, une certaine toxicité.

3) Un autre Aspergillus, *l'Aspergillus flavus*, est responsable des accidents mortels provoqués, chez les volailles et en particulier chez les jeunes dindes et canards, par la consommation de farines d'arachides d'origine brésilienne ([189]). Parmi les symptômes observés, l'un des plus frappants était la nécrose aiguë du parenchyme hépatique accompagnée de proliférations au niveau des conduits biliaires. L'administration au Rat d'un régime renfermant 20% de cette farine provoque une baisse de croissance au bout de quelques semaines. Chez les animaux sacrifiés au bout de 30 semaines, le poids du foie était environ 2 fois plus élevé que celui des témoins et 9 animaux sur 11 étaient porteurs de cancers hépatiques avec, chez deux animaux, des métastases pulmonaires. La cause de cette toxicité résidait dans une contamination des échantillons de farine d'arachide par l'*Aspergillus flavus* ([284]) dont l'extrait chloroformique est extrèmement toxique, particulièrement pour le jeune canard, et provoque l'apparition de lésions sévères du foie.

Sargeant et collaborateurs ([284]) qui firent ces observations réussirent à isoler de la farine contaminée une substance toxique cristallisée (aflatoxine) provoquant, à la dose de 20 µg, la mort de canetons en 24 heures. La nature chimique de ce composé qui ne renferme pas d'azote n'a pas encore été établie avec certitude, à notre connaissance. Ces constatations ont justement alerté les spécialistes de l'hygiène alimentaire, car les arachides servent non seulement à la fabrication de farines pour l'alimentation animale, mais constituent en outre des matières premières pour l'obtention de denrées destinées à l'alimentation humaine, telles que le beurre d'arachide, les margarines, certaines huiles pour l'usage culinaire et même des crèmes glacées ([410]). Il n'est pas exclu, enfin, que la toxine passe dans le lait des vaches nourries avec des farines contaminées. Aussi, un grand intérêt s'attache à un contrôle rigoureux de l'absence de contamination, complété par une séparation du facteur toxique par extraction à l'aide de solvants suivie de chromatographie sur papier dans des conditions bien déterminées avec révélation grâce à la fluorescence sous U.V. En cas de résultat positif, il est indiqué de procéder à un essai biologique sur le caneton, animal particulièrement sensible à l'action de la toxine ([411]).

La découverte de la toxicité conférée aux arachides par la pullulation d'*Aspergillus flavus*, explique, peut être, un certain nombre de constatations antérieures concernant la production de cancers du foie,

chez le Rat, sous l'influence de régimes renfermant une certaine proportion de farine d'arachide ([63bis] - [293bis]).

4) Brumpt ([50bis]) a reporté en 1946 l'existence d'une maladie sévissant, à cette époque en U.R.S.S. depuis une quinzaine d'années et provoquées chez certaines populations rurales par l'ingestion de céréales ayant passé l'hiver dans les champs recouverts de neige. Le symptome principal en était une leucopénie avec hypogranulocytose pouvant aller jusquà l'agranulocytose totale avec aplasie myéloïde et lymphoïde des organes hématopoïétiques, d'où le nom d'aleucie toxi-alimentaire qui lui avait été donné. L'issue en était souvent fatale par hémorragie massive, défaillance cardiaque et complications pulmonaires. On avait écarté à l'époque le rôle étiologique des moisissures noirâtres proliférant sur les grains avariés. A la lumière des observations précédentes, il me semble que cette conclusion était peut-être un peu hâtive.

* * *

Je me suis étendu volontairement sur ces exemples récents de risques de nocivité pouvant résulter de contaminations des aliments par des microorganismes, exemples auxquels d'autres viendront certainement s'ajouter, pour bien montrer l'intérêt qui s'attache à éviter de telles contaminations par des conditions convenables de récolte, de stockage et de transport.

Est-ce à dire que de telles constatations justifient l'addition aux aliments d'agents chimiques doués de propriétés antiseptiques ou fongicides? A mon avis, il convient de se montrer extrèmement prudent avant de recourir à une telle utilisation, ceci pour deux raisons principales:

— l'emploi d'antiseptiques rend possible la délivrance aux consommateurs de produits de mauvaise qualité: viandes douteuses, laits souillés, beurres mal travaillés, confitures ou sirops à faible teneur en sucre, etc...;

— le mécanisme d'action antiseptique est presque toujours un phénomène très général de toxicité, découlant, le plus souvent, de l'inhibition de systèmes enzymatiques fondamentaux, qui sont en général les mêmes chez l'homme que chez les bactéries. C'est ainsi que les fluorures inhibent chez les deux catégories d'êtres vivants, les phosphatases, certaines diastases présidant au métabolisme des glucides et le système du cytochrome.

En France, la législation interdit de façon générale l'addition d'antiseptiques aux denrées alimentaires. Quelques exceptions sont cependant prévues, mais elles ne sont pas nombreuses.

La sévérité de la position française a été souvent critiquée. Je voudrais la justifier, en rappelant, à titre d'exemples, la nocivité de certains antiseptiques.

— *Anhydride sulfureux et sulfites* ([294-113]).

L'anhydride sulfureux et les sulfites, autorisés par la législation française, à des concentrations maximales fixées de façon précise (50 à 500 mg/Kg), pour la conservation de certaines denrées nommément désignées (moûts de raisin, vins, fruits séchés, moutardes...), ne sont pas exempts de danger, si l'on rappelle que, ainsi que je l'ai signalé dans l'introduction, ils inactivent la vitamine B_1, et, de ce fait, peuvent être à l'origine de troubles de carence, si les aliments soumis à leur action entrent pour une part suffisamment importante dans le régime (céréales, viandes, produits laitiers). Il faut également mentionner la possibilité de réaction de l'anhydride sulfureux sur les liaisons disulfure-S-S- des protéines, avec formation d'un groupement thiol et d'un groupement -S-SO_3H ([319bis]), et rappeler à cet égard qu'un S-sulfoglutathion G-S-SO_3H très fortement acide a été isolé du cristallin par Waley ([380]). La formation de tels composés pourrait peut-être expliquer, au moins en partie, les réactions d'intolérance (céphalées entre autres) observées chez certains sujets, les glaucomateux par exemple. En ce qui concerne la nocivité pour l'homme, il faut rappeler que Walbaum ([379]) a constaté la production de symptomes toxiques graves (irritation du tractus digestif en particulier) chez des sujets ayant reçu 4 fois par jour, pendant 4 jours, des doses de 310 à 620 mg. de sulfite de sodium. Par ailleurs, l'action antiseptique de l'anhydride sulfureux et des sulfites est beaucoup moindre vis-à-vis des bactéries anaérobies et, d'après les résultats de Lafontaine et de ses collaborateurs ([188]), ils tendraient même à favoriser la prolifération de ces dernières. Il y a là une raison supplémentaire importante pour légitimer l'interdiction de l'addition de sulfites aux viandes dans le but de les maintenir en état de fraicheur apparente avec une belle couleur rouge, pratique constituant manifestement par ailleurs une tromperie du consommateur.

Un certain nombre d'auteurs ont essayé de calculer la dose journalière maximale pouvant être tolérée pour l'homme pour une absorption prolongée, de manière à pouvoir fixer, en tenant compte de cette donnée de base fondamentale et aussi de la proportion dans le régime moyen des aliments traités par l'anhydride sulfureux ou les sulfites, les concentrations tolérables dans ces aliments. Je mentionnerai, à cet égard, les conclusions auxquelles sont arrivés les membres de la 6ème session du Comité mixte d'experts FAO/OMS des additifs aux aliments (Génève, Juin 1961). Partant des données expérimentales de Fitzhugh et collabora-

teurs ([104]), d'après lesquelles l'administration au rat pendant 2 années d'un régime renfermant 0,5 g/Kg de bisulfite de sodium (soit 0,307 g/Kg en anhydride sulfureux) ne provoquerait aucun effet nocif détectable, ils ont calculé, exprimée en anhydride sulfureux libre, la dose journalière tolérable pour le Rat en mg/Kg de poids corporel, ce qui leur a fourni un chiffre de 15 mg/Kg (*). Pour extrapoler à l'homme, ils ont appliqué un facteur de sécurité de 50 et aboutit à une dose journalière maximale sensiblement égale à 0,35 mg/Kg de poids corporel, soit, pour un adulte de 70 Kg, une dose maximale tolérable de 25 mg par jour. Ils on toutefois estimé que, dans certaines conditions, cette dose pouvait être multipliée par 4. Même avec cette extension, il est facile de voir, en considérant les tolérances présentement admises dans divers pays en ce qui concerne les aliments traités par l'anhydride sulfureux et les sulfites, et tout spécialement les vins, où, par ailleurs, les quantités dépassent très souvent, les taux permis, que les emplois de ces composés conduisent le plus souvent à l'absorption d'une dose journalière nettement supérieure à celle pouvant être considérée comme acceptable. Il y a là un problème très important pour la protection de la santé publique dont la solution exigera d'importants progrès technologiques pouvant permettre la restriction progressive de l'emploi de ces composés qui, de toutes façons, doit être interdit pour les aliments constituant des sources relativement importantes de vitamine B_1, c'est-à-dire les viandes, les produits laitiers et ceux obtenus à partir des céréales. Parmi les problèmes à étudier, il faut souligner, entre autres, l'influence sur la toxicité de la combinaison de l'anhydride sulfureux et des sulfites avec certains constituants des denrées alimentaires, et en particulier ceux à groupements aldéhydiques ou cétoniques, comprenant les sucres. Il y a là un domaine encore très peu exploré.

— *Acide salicylique et dérivés.*

L'acide salicylique (acide arthohydroxybenzoïque) et ses dérivés ont été utilisés pendant la guerre pour la fabrication de confitures à faible teneur en sucre, de conserves de fruits ou de purées de tomates. Ils le sont encore parfois pour ce dernier usage sur le plan ménager, à la concentration de 1 g/Kg. Or, il ne faut pas oublier que l'acide salicylique et ses dérivés peuvent entrainer, chez certains sujets, même à une concentration aussi faible, des phénomènes d'intolérance (vasodilatation périphérique, éruptions cutanées, abaissement du taux de prothrombine

(*) Les calculs ont été effectués en se servant de la table de conversion publiée par Lehman (A.J.) dans Quart. Bull. Assoc. of Food and Drug Officials du 18 Octobre 1954. Il en a été de même pour tous les autres calculs du même type indiqués dans cet article.

avec manifestations hémorragiques). De plus, il n'existe aucune donnée sur les effets à long terme qui pourraient éventuellement se produire, même chez les sujets ne présentant pas de sensibilité particulière aux salicylés.

— *Acide monobromacétique et dérivés.*

L'acide monobromacétique et ses dérivés (sel de sodium, ester éthylique, ester d'éthylglycol...) ont été préconisés pour la conservation des vins sucrés, des jus de fruits et même du lait. Un tel usage doit être interdit pour plusieurs raisons:

a) *sur le plan biochimique*:

Bacq et ses collaborateurs ([15-16-14]); ont démontré que l'acide monobromacétique et ses dérivés étaient des substances thioloprives, c'est-à-dire qu'elles bloquent les groupements thiols ou sulfhydrylés, indispensables à la respiration cellulaire et au fonctionnement de nombreux enzymes (succinodeshydrogénase, uréase, etc...) et constituent des poisons protoplasmiques.

$$R — SH + BrCH_2 — COOH = HBr + R — S — CH_2 — COOH$$

b) *sur le plan pharmacologique*:

Bacq ([17]) a montré que l'injection ou l'ingestion d'acide monobromacétique à la dose de 0,2 mg à 2 mg/Kg, c'est-à-dire à des doses de l'ordre de celles pouvant être absorbées avec des aliments traités, provoquaient chez le Chien des troubles cardiaques, objectivés par des altérations de l'électrocardiogramme.

— *Acide borique et borates alcalins.*

L'acide borique et les borates alcalins (borax) sont autorisés dans certains pays pour la conservation d'aliments tels que les poissons (morues), les crustacés (homards, crevettes...); les oeufs en poudre et même le beurre. Certes, la toxicité aiguë de l'acide borique n'est pas très élevée, les DL_{50} per os pour divers animaux (Souris, Rat et Lapin) étant comprises entre 2 g et 5 g/Kg de poids corporel ([55-260]). Mais Pfeiffer et collaborateurs ([260]) ont constaté que l'administration à de jeunes rats d'acide borique dans l'eau de boisson, à des doses correspondant à une concentration de 0,25% dans le régime (soit sensiblement 330 mg/Kg de poids corporel et par jour), provoquait, au bout de 20 à 30 jours, une nette inhibition de croissance. Des observations dans le même sens ont été faites à des concentrations beaucoup plus basses (73 à 198 mg de bore par Kg de régime) par Forbes et Mitchell ([114]), cepen-

dant que, après administration à des chats pendant 133 jours d'une nourriture additionnée de borax, HARRINGTON ([137bis]) a noté l'apparition de lésions rénales retrouvées, de façon plus discrète, par FROST et RICHARDS ([118]) chez le Chien. Les nombreux cas d'intoxication aiguë observés chez l'homme, particulièrement chez les enfants en bas âge, ont mis en évidence comme symptomes principaux, des phénomènes d'irritation intestinale et une atteinte rénale. Il n'y a pas, dans la littérature toxicologique, de données concernant des expérimentations à long terme, mais d'après les indications de PFEIFFER et collaborateurs ([260]), le bore parait s'accumuler dans les réserves lipidiques, le foie et le système nerveux central (*). Cette dernière localisation est importante à prendre en considération si l'on rappelle que, à partir d'une certaine concentration, les ions boriques inhibent la consommation d'oxygène ([114]), la formation d'ammoniac et la synthèse de glutamine au niveau du tissu cérébral ([331]). Sur le plan biochimique, il convient également de mentionner l'aptitude que possède l'acide borique de former des complexes avec les composés polyhydroxylés, ce qui lui confère, entre autres, un pouvoir d'inhibition vis-à-vis de l'oxydation de l'adrénaline. TRAUTNER et MESSER ([332]), qui ont signalé cet effet, pensent qu'il intervient, au moins pour une part, dans les mécanismes d'action toxique de l'acide borique et de ses dérivés.

Il faut enfin rappeler que l'absorption répétée d'acide borique provoque, chez l'Homme, une chute de poids, ce qui avait conduit certains à préconiser son emploi dans la lutte contre l'obésité. Tous les faits connus, et par ailleurs l'absence de données vraiment précises concernant les effets à long terme chez l'animal conduisent à rejeter l'emploi de l'acide borique comme additif aux aliments, surtout si l'on considère que ce produit n'est vraiment efficace comme antiseptique alimentaire qu'à des concentrations relativement élevées.

— *Hexaméthylènetétramine.*

L'hexaméthylènetétramine est utilisée dans certains pays pour la conservation du poisson et des viandes. Il s'agit là d'un produit très

---

(*) Entre la rédaction de cet article et la correction des épreuves, j'ai pris connaissance d'un travail récent de GAST et MURRAY ([120bis]) dans lequel ces auteurs confirment l'accumulation du bore dans le cerveau au cours de l'intoxication chronique par l'acide borique chez le Rat et la Souris. Par la mise en oeuvre de techniques chromatographiques et électrophorétiques, ils ont pu préciser que 90 p. 100 du bore ainsi retenu se retrouvent dans les fractions lipidiques du tissu cérébral.

Personnellement, j'ai en cours, en collaboration avec PHU LICH (N), des expérimentations à long terme de l'acide borique sur diverses espèces animales. Nous avons été surpris de constater, chez le Rat, une tolérance à de petites doses longtemps répétées d'acide borique beaucoup plus marquée que ce que nous attendions. Mais il nous faut attendre encore pour pouvoir poser des conclusions.

suspect, avec lequel Watanabe et Sugimoto (383) ont obtenu, chez le Rat, après injections sous-cutanées répétées d'une solution aqueuse à 40%, un pourcentage très significatif de cancers au point d'injection (8 sarcomes sur 14 rats). Chez la Drosophile, ce composé générateur de formaldéhyde s'est par ailleurs révélé doué d'action mutagène (13). En outre, son action désodorisante risque de masquer un état de putréfaction avancée.

AGENTS DE SALAGE: NITRATES ET NITRITES ALCALINS:

Je voudrais dire ici quelques mots du *nitrate de potassium*, autorisé en France pour la salaison des viandes sous forme de saumure, en général à la concentration de 2,5% (concentration maximale tolérée, d'ailleurs, à mon avis, un peu trop élevée: 10%).

En dehors de son action conservatrice, attribuée à l'inhibition de la prolifération des bactéries anaérobies grâce à son pouvoir oxydant, ce composé a l'avantage de provoquer une coloration rosée engageante de la viande, d'où l'utilisation fréquente de saumures nitratées pour la conservation des viandes de charcuterie et tout spécialement des jambons. Le mécanisme de production de cette teinte appétissante est actuellement parfaitement élucidé. Comme l'a montré Orlow dès 1904, les tissus animaux sont capables de réduire les nitrates en nitrites et ce sont ces derniers qui, par transformation de l'hémoglobine des viandes en méthémoglobine, puis en nitrosométhémoglobine, font apparaitre la coloration recherchée. Ils interviennent, de plus, pour inhiber les proliférations de nombreuses espèces de bactéries aérobies et anaérobies. Mais ils sont doués d'une action méthémoglobinisante, c'est-à-dire qu'ils transforment l'hémoglobine, chargée comme on sait d'assurer le transport de l'oxygène, en méthémoglobine, incapable de remplir cette fonction; ils sont, par suite, susceptibles de provoquer des phénomènes de cyanose et d'asphyxie. On peut donc se demander si, dans certaines conditions, et en particulier par suite de l'action favorisante sur la prolifération des bacilles dénitrifiants du sucre que les charcutiers ajoutent souvent à la saumure pour en masquer partiellement la saveur amère et salée, la quantité de nitrites alcalins ingérés avec les viandes ainsi conservées ne risque pas d'être suffisante pour exercer des effets nocifs. De fait, plusieurs centaines d'accidents sont survenus en Allemagne au cours des années de guerre, à la suite de la consommation de viandes de charcuterie ou de bouillons ayant servi à la cuisson de saucissons salés (58). Ces observations avaient conduit les autorités allemandes à fixer le taux maximal de nitrites tolérable dans la viande à 150 mg/Kg.

Un bel exemple des effets nocifs que peuvent exercer les nitrates,

par suite de leur transformation en nitrites, a été fourni dans ces dernières années par de nombreuses observations d'accidents de cyanose méthémoglobinémique chez les nourrissons, à la suite de l'ingestion de laits de vaches coupés avec des eaux de puits nitratées. Très probablement interviennent ici, à côté de phénomènes de stase intestinale, des conditions de pH favorables à la prolifération des bactéries dénitrifiantes. Il est en effet curieux de constater que certains nourrissons sont atteints, alors que d'autres nourrissons, des enfants et des adultes consomment la même eau sans présenter de troubles.

Tous ces faits expliquent l'attitude extrêmement réservée adoptée par les hygiénistes à l'égard de l'utilisation des nitrites eux-mêmes comme agents conservateurs des viandes. Cependant, la plupart sont en faveur de la solution consistant en leur addition en quantité strictement limitée (5 à 6 g par Kg au maximum) au sel ordinaire, ce qui permet de limiter, de façon sûre, la dose de nitrites (*). Tous sont d'accord pour admettre que les nitrites, même sous cette forme, ne doivent jamais être ajoutés à la nourriture des nourrissons en raison de l'extrême sensibilité de ces derniers.

En ce qui concerne les adultes, le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires a, lors de sa dernière réunion (Genève, Juin 1961), essayé de fixer une dose journalière tolérable pour une absorption prolongée. Il s'est basé sur les résultats d'expérimentations à court terme effectuées sur le Rat par Tarr et Carter ([323]) et surtout sur une des expérimentations à long terme de Druckrey ([89]). Cet auteur a soumis des rats à l'administration continue, pendant toute leur vie et en opérant sur 3 générations successives, de 100 mg de nitrite de sodium par Kg de poids corporel, et par jour; le sel étant dissous dans l'eau de boisson. Bien que cette dose représentait les 2/3 environ de la DL_{50}, il n'a été observé qu'une légère diminution (10 à 20%) de la croissance et de la durée de vie moyenne (640 jours au lieu de 740 pour les témoins). Prenant en considération l'aptitude de l'acide nitreux à réagir avec les amines secondaires pour donner naissance à des dialcoylnitrosamines hautement toxiques et douées d'un pouvoir cancérogène hépatique chez le Rat, Druckrey a complété son expérimentation en soumettant des rats de façon prolongée à un traitement combiné par du nitrite de sodium (100 mg/Kg de poids corporel et par jour) et de la diethylamine (50 mg/Kg, par jour). Il a noté encore une fois un léger raccourcissement

---

(*) La confusion entre le sel nitrité et le nitrite pur est toutefois à redouter comme l'ont montré les accidents qui se sont produits à Stuttgart dans ces dernières années. C'est pourquoi il faut recommander que le nitrite de sodium ne soit jamais distribué aux utilisateurs à l'état pur, mais uniquement en mélange avec le sel ordinaire sous la dénomination de « sel nitrité pour saumure ».

de la durée de vie moyenne, mais n'a pas observé la production de tumeurs.

En se basant sur ces données, et en appliquant un facteur de sécurité de 250, les experts FAO/OMS ont fixé à 0,4 mg par Kg de poids corporel la dose journalière tolérable pour l'homme, soit sensiblement 30 mg pour un homme d'environ 70 Kgs, dose pouvant être, dans certaines conditions à apprécier par des experts compétents, multipliée par 2.

En considérant spécifiquement les nitrates, il me parait intéressant de signaler qu'ils ont fait, entre autres, l'objet, de la part de Lehman et de ses collaborateurs de l'U.S. Food and Drug Administration ([196bis]), d'une expérimentation à court terme chez le Chien et à long terme chez le Rat. Deux chiens ont été soumis à l'administration, pendant 105 et 125 jours respectivement, d'un régime contenant 2 p. 100 de nitrate de sodium. Il n'a été noté aucun effet nocif. Des lots de 20 rats ont été soumis pendant deux ans à des régimes renfermant de 0,1 à 10% de nitrate de sodium. A partir de la concentration de 5%, a été observée une légère inhibition de la croissance, cependant que des altérations morphologiques se sont manifestées à la concentration de 10%. Les nitrates pourraient exercer également une action inhibitrice sur la fixation de l'iode par la thyroïde ainsi que semblent le montrer, après celles de Wyngaarden et Wright ([399]) par injection, les expériences de Bloomfield et collaborateurs ([39]) sur le Rat soumis à des régimes contenant 0,5 à 2,5% de nitrates. En partant du fait que la concentration de 1% n'a, dans les expériences de Lehman, provoqué aucun effet nocif chez le Rat, même après une absorption prolongée pendant toute la vie, on peut déduire que la dose journalière tolérable chez cet animal en mg/Kg de poids corporel, est de l'ordre de 500. En appliquant un facteur de sécurité de 100 pour l'extrapolation à l'homme, ceci donne 5 mg/Kg de poids corporel, soit 350 mg/jour pour un adulte de 70 Kgs. En se basant sur ce chiffre pour la fixation des concentrations tolérables dans les aliments pouvant être additionnés de nitrates, il convient de ne pas oublier que ces sels sont présents normalement dans la plupart des plantes cultivées, certaines, comme les épinards et la rhubarbe, en renfermant jusqu'à 3,6 à 4,5 g par Kg ([272-395]). Comme dans le cas des nitrites, il convient d'éviter toute addition de nitrates aux aliments des nourrissons.

AGENTS DE FUMAGE

La pratique du fumage pour la conservation de certains aliments, tout spécialement des poissons et des viandes, est très ancienne. Or, un certain nombre de travaux, effectués en ces dernières années, ont attiré

l'attention sur les risques que pourrait comporter une telle pratique appliquée inconsidérément. Ces risques résulteraient du fait que la combustion incomplète des matières utilisées pour le fumage, le plus souvent du bois, pourrait être à l'origine de la contamination des denrées traitées par des hydrocarbures aromatiques polycycliques cancérogènes tels que le benzo.3.4.pyrène. On sait, en effet, que certains goudrons de bois possèdent une action cancérogène faible ([371-78]) et, par ailleurs, des hydrocarbures polycycliques cancérogènes (benzo.3.4.pyrène, dibenzo.1.2.5.6. anthracène, etc...) ont pu être caractérisés dans la fumée d'installations de fumage de denrées alimentaires ([69]).

Deux séries d'arguments ont été mis en avant:

1) *caractérisation du benzo.3.4.pyrène dans les denrées fumées.*

Ce sont les savants tchécoslovaques Sula, Dobes et Hopp qui ont les premiers caractérisé, par spectrographie de fluorescence, le benzo.3.4.pyrène, d'abord dans la suie obtenue en râclant les murs intérieurs des fumoirs ([318]), puis dans la viande et le poisson fumés ([79]). Leurs constatations ont été confirmées par les chercheurs russes Gorelova et Dikoune et leurs collaborateurs ([123-246]). D'après leurs résultats analysés par Shabad ([298]), 1 Kg de saucisson fumé contient, par exemple, 1,9 à 4,5 microgrammes de benzo.3.4.pyrène dont presque les 2/3 se trouvent dans la masse principale de l'aliment. Dans la suie récoltée sur les parois des chambres de fumage des usines pour le traitement du poisson, ou sur les murs des fumoirs individuels dans les villages de pêcheurs de la côte de la Baltique, les auteurs ont trouvé de 1 à 10 microgrammes de benzo.3.4.pyrène par gramme, cependant que des poissons fumés à l'usine ou à la maison dans le district de Tonkoum en Lettonie en contenaient de 3,3 à 6,7 microgrammes par Kg. La répartition de l'hydrocarbure polycyclique se modifie au cours de la conservation. Alors qu'aussitôt après le fumage les parties internes des poissons fumés ne contiennent que 10% environ de la quantité totale, au bout de 40 jours, la proportion atteint 40 à 45%.

En résumé, la présence de benzo.3.4.pyrène dans les aliments fumés est certaine, mais cette teneur reste très minime (quelques microgrammes par Kg), sauf en cas de contamination par la suie. Par ailleurs, il faut bien souligner que, sauf dans le cas de groupes très particuliers de populations, cette variété d'aliments n'est consommée que rarement et en petites quantités.

2) *fréquence plus élevée de cancers dans les groupes de populations consommant ces denrées.*

Le rôle que peuvent éventuellement jouer les composés cancérogènes présents dans les aliments fumés dans l'étiologie du cancer de

l'homme a été mis en évidence par des enquêtes épidémiologiques effectuées sur 2 groupes de populations: pêcheurs de la Mer Baltique (côte du Golfe de Riga) d'une part, et habitants des districts agricoles de l'intérieur vivant dans des conditions sensiblement semblables, d'autre part ([174-370]). Les habitants du littoral (hommes et femmes) dont l'activité professionnelle est liée à la pêche ou au traitement du poisson (chaque foyer possédant son fumoir individuel pour la conservation du poisson destiné à la consommation familiale) et qui consomment des quantités importantes de poisson fumé, présentent environ trois fois plus de néoplasmes de tous types, et quatre fois plus de cancers gastro-intestinaux que la population de l'intérieur dont l'alimentation ne comporte qu'exceptionnellement du poisson fumé. Des fréquences analogues, bien que d'une signification statistique moins certaine, ont été observées chez les ouvriers travaillant au fumage du poisson et de la viande ([167]). On trouvera les détails relatifs à ces statistiques dans un article de Shabad ([298]).

Des observations du même ordre ont été faites en Islande où la fréquence élevée des cancers gastriques (2.600 cas enregistrés entre 1921 et 1959) est attribuée à la consommation d'aliments fumés dans lesquels le benzo-3.4.pyrène a également pu être caractérisé ([19]).

Il faut mentionner, dans le même sens, les recherches effectuées par Fark ([99]) avec la viande de porc fumé consommée en abondance dans la région du lac de Constance où la mortalité due au cancer est particulièrement élevéee. Administrant à des souris un régime riche en cet aliment, cet auteur a observé l'apparition de tumeurs chez 8 des animaux ainsi traités. Mais une expérience analogue ultérieurement effectuée sur 50 souris lui a fourni des résultats négatifs. Entre temps, Schmahl et Reiter ([287]), préoccupés par ce problème, ont fait absorber journellement à 31 rats, pendant toute leur vie, 3 g de couenne de lard fumé. Chez un animal apparut un lymphosarcome après 703 jours de traitement, mais tous le autres animaux ne présentaient aucune tumeur. Il en fut ainsi chez 11 rats soumis à des injections sous-cutanées et intra-péritonéales répétées d'un insaponifiable obtenu à partir de viande de porc fortement fumée. En revanche, la suie récoltée sur les parois intérieures d'une chambre de fumage s'est révélée faiblement cancérogène: I sarcome spinocellulaire abdominal et 2 tumeurs bénignes chez 3 animaux sur 31 soumis à l'ingestion prolongée de cette suie (dose totale: 8 g par animal); 1 cancer des voies bilaires chez 1 animal sur 19 soumis à l'implantation intrapéritonéale de 0,5 g de suie.

Antérieurement, Sulman et Sulman ([319]), injectant à des rats, par voie sous-cutanée, des extraits d'une suie de bois récoltée sur les parois des chambres de fumage d'une fabrique de saucisses, avaient obtenu 16,6% de sarcomes, cependant que l'implantation intrascrotale de la

même suie ou la consommation prolongée des saucisses fumées ne provoquait pas de cancer.

Comme le souligne fort justement Shabad ([298]), la mise en évidence d'hydrocarbures cancérogènes dans les aliments fumés et la révélation statistique de leur influence chez l'homme mettent à l'ordre du jour l'étude des moyens de prévention à mettre en oeuvre pour diminuer leur quantité.

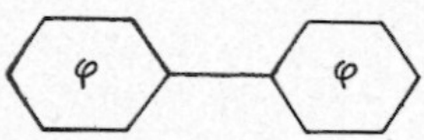
Plusieurs catégories de mesures nous paraissent devoir être considérées :

a) Il est évident tout d'abord qu'il s'impose de rejeter pour les opérations de fumage les bois provenant de la démolition des vieux bateaux très souvent revêtus de goudrons doués d'activité cancérogène, et, d'une façon plus large, tous les bois souillés.

b) En Union Soviétique, a été étudiée la possibilité de substituer au fumage un traitement par trempage (« fumersion ») dans un liquide (extrait pyroligneux) préparé dans des condition telles qu'il ne renferme que des quantités négligeables de benzopyrène ([124-193]). Les poissons fumés avec un tel liquide contiennent plusieurs dizaines de fois moins de benzopyrène que le poisson fumé ordinaire.

c) On peut aussi combiner le traitement au moyen de liquides à fumer avec un fumage consécutif de courte durée. On réduit ainsi considérablement le taux de benzopyrène des aliments fumés ([125]).

Toutes ces solutions représentent des exemples de méthodes de prévention des risques de nocivité sous l'influence des additifs aux aliments. Elles pourront encore être améliorées par une connaissance plus complète du rôle, dans la production des hydrocarbures polycyliques, respectivement de la nature des bois, des traitements qu'ils ont pu subir et des modalités de la combustion lors du fumage ([248]).



DIPHENYLE :

Il s'agit, avec ce composé, d'un type de conservateur utilisé pour des traitements en surface de denrées après la récolte, en l'espèce des agrumes, pour éviter, au cours du stockage ou du transport, le développement de moisissures, telles que *Penicillium digitatum* (moisissure verte) ou *Penicillium italicum* (moisissure bleue), rendant les fruits inconsommables.

Le Diphényle, ou *Biphényle*, n'est pas un fongicide, au sens strict, mais un fongistatique dont l'action inhibitrice de la croissance des moisissures amenant la pourriture des agrumes a été découverte en 1935 par Tomkins ([329]) et confirmée en 1938 par Farkas ([100]).

Il est actuellement considéré comme le produit le plus efficace de tous ceux qui ont été proposés et employés à ce titre, entre autres aux Etats-Unis (Californie, Texas et Floride), au Brésil, en Afrique du Sud et en Israël.

Du point de vue physico-chimique, le diphényle est un solide incolore, de saveur et d'odeur caractéristiques, plutôt désagréables. Sa tension de vapeur à la température ordinaire est suffisante pour permettre sa sublimation.

Son caractère sublimable conditionne ses modes d'utilisation, dont les 2 principaux sont les suivants:

1) emballage individuel des fruits dans des papillottes imprégnées de produit, procédé actuellement utilisé en Afrique du Sud, où les fruits ainsi enveloppés sont ensuite disposés dans des caisses en bois;

2) emploi de feuilles de papier fort, imprégnées de diphényle, découpées à la dimension de boites en carton, où sont disposés les fruits préalablement nettoyés, séchés et soigneusement triés. Deux feuilles ainsi imprégnées sont introduites dans chaque carton, l'une à la partie inférieure, l'autre à la partie supérieure. Le carton étant fermé, le diphényle se sublime peu à peu et vient imprégner la partie externe des fruits, les protégeant contre l'envahissement par les moisissures. Ce procédé est actuellement utilisé aux Etats-Unis.

Il semble qu'il soit depuis quelques temps également fait appel, dans ce dernier pays, au revêtement individuel des fruits par aérosolisation d'une solution à 10% d'une résine physiologiquement inerte (résine de coumarone-indène) et 1% de diphényle dans des essences de pétrole purifiées additionnées d'une petite quantité d'huile de coton comme plastifiant. Après évaporation du solvant, il reste un mince film à la surface du fruit qui s'oppose au développement des moisissures.

Sur le plan toxicologique, de nombreuses expérimentations ont été réalisées:

— Farkas ([101]) a administré 16 mg de diphényle par semaine à 1 rat pendant 20 semaines, 90 mg par semaine à 1 singe pendant 17 semaines et 35 mg par semaine à I volontaire humain pendant 13 semaines. Il n'a observé aucun effet nocif.

— West ([388]) a montré que l'administration à un lot de rats d'un régime renfermant 10 g/Kg de diphényle supprimait complètement la

croissance, cet effet pouvant être levé partiellement ou totalement, par addition au régime de l.cystine ou de d.l.méthionine.

— West et Jefferson ([387]), administrant à de jeunes rats un régime contenant 3 g par Kg de diphényle, ont observé un retard de croissance par rapport aux témoins, retard d'autant plus marqué que le régime était plus pauvre en protéines.

— Mac Intosh ([208]) a administré per os à des jeunes rats pendant 4 semaines 2,20 et 200 mg de diphényle par Kg de poids corporel et par jour, la dernière dose correspondant à une teneur du régime d'environ 2 g/Kg. Il n'a observé aucune modification de la croissance, non plus qu'aucune anomalie sanguine.

— Deichmann et ses collaborateurs ([73]) ont administré à des lapins 1 g de diphényle par Kg de poids corporel, 2 à 3 fois par semaine, soit 0,3 à 0,4 g par jour. Les animaux ont succombé après 5 à 20 semaines en présentant des phénomènes de dégénérescence au niveau du coeur, du foie, du rein et du poumon.

— Newell ([239]) a expérimenté sur le Rat et sur le Singe. Il a administré à des lots de jeunes rats des régimes renfermant 0,1 g, 0,3 g ou 1 g par Kg de diphényle pendant 3 mois. Il n'a observé aucun effet significatif sur la croissance, le poids des organes, l'azote uréique du sang et la structure macroscopique ou histologique des organes; toutefois, à la concentration de 1 g/Kg, il a noté un léger effet excitant de l'excrétion urinaire. Soumettant un certain nombre de singes à l'administration pendant une année de régimes renfermant de 0,1 g à 10 g/Kg de diphényle, il n'a observé aucun effet nocif significatif autre qu'une augmentation de poids du foie à la concentration la plus élevée de 10 g/Kg.

Il a bien noté quelques altérations rénales chez certains des animaux traités, mais de tels phénomènes s'observaient aussi chez les témoins. Dans ces conditions, Newell s'est déclaré incapable de déduire de ses résultats d'expérience une marge de sécurité pour l'emploi du diphényle dans le traitement des agrumes.

— Hazleton et ses collaborateurs ([140]) ont administré à des chiens (3 lots de 3, dont 1 lot témoin), en solution dans l'huile de maïs, 2,5 à 25 mg de diphényle par Kg et par jour, 5 jours par semaine pendant 52 semaines, ce qui correspond à des concentrations respectives dans le régime à l'état sec d'environ 0,1 et 1 g/Kg. Ils n'ont observé aucun effet nocif significatif, non plus qu'aucune altération macroscopique ou microscopique des organes.

Les résultats d'expérimentations poursuivies pendant 2 ans sur le Rat sont indiqués dans le dossier, établi en mars 1956, par les Labora-

toires Hazleton à l'appui de la demande d'autorisation d'emploi du diphényle aux Etats-Unis. A la concentration de 2,5 g/Kg de régime s'est manifestée une atteinte discrète de la fonction rénale. A la concentration de 5 g/Kg sont apparues des lésions rénales, en même temps que s'observaient une inhibition de la croissance et une augmentation de la mortalité.

Une expérimentation à long terme très rigoureuse a été effectuée sur le Rat par Ambrose, Booth, De Eds et Cox ([6-46]), pour essayer de préciser les risques d'atteinte rénale

Des lots de 30 animaux (par moitié mâles et femelles) ont été soumis, immédiatement après le sevrage, à l administration de régimes contenant de 0,01 g à 10 g par Kg de diphényle. A partir de la concentration de 5 g/Kg, a été observée, pour les deux sexes, une inhibition de la croissance, que les auteurs attribuent à la diminution de la consommation de nourriture, et, après 500 jours d'administration, une diminution du taux de l'hémoglobine. En outre, sont apparues des lésions rénales (en particulier dilatation, hémorragies et atrophie tubulaires avec infiltration lymphocytaire), s'accompagnant d'hydronéphrose et parfois d'albuminurie et même d'hémoglobinurie. Ces symptomes ne se sont pas produits pour les concentrations ne dépassant pas 1 g/Kg. Ils étaient, par ailleurs, réversibles, disparaissant pratiquement en un mois dès qu'on suspend l'administration du diphényle ([44]).

Les auteurs précisent qu'ils n'ont observé d'altérations histologiques significatives au niveau d'aucun autre organe, y compris le foie, soulignant en outre qu'il ne s'était pas produit d'augmentation significative du nombre des tumeurs comparativement aux témoins. Ce dernier point est important, car on peut relever dans la littérature toxicologique, une publication de Pecchiai et Saffiotti ([259]), d'après laquelle, sur 13 rats soumis à l'administration prolongée de diphényle, ont été observés un cancer spino-cellulaire et 2 papillomes de l'estomac antérieur. Mais ces résultats sont difficiles à interpréter, car la pureté du produit expérimenté n'est pas précisée et surtout, il n'y avait pas de lot témoin permettant la comparaison avec le lot traité, composé par ailleurs d'animaux n'appartenant pas à une souche sélectionnée. A ce sujet, il convient d'ajouter que, par badigeonnages répétés de la peau de la Souris avec des solutions de diphényle, Bloch ([38]) n'a obtenu aucune tumeur. Il en a été de même dans les expériences conduites aux Laboratoires Hazleton où des souris sensibles ont été badigeonnées 2 fois par semaine avec une solution à 22% de diphényle pendant plus de six mois et observées ensuite pendant une année.

Sur le plan biochimique, l'étude du métabolisme du diphényle a montré que, chez le Chien ([176]), le Rat ([386-390]) et le Lapin ([389]), le produit

était oxydé en composés phénoliques, parmi lesquels prédomine l'hydroxy.4.diphényle, excrété dans l'urine sous forme libre ou conjuguée (sulfo et glucurono-conjugués). Le fait que le même mécanisme se retrouve chez 3 espèces animales différentes permet de penser que le métabolisme chez l'homme doit être analogue, mais il n'existe, à ce sujet, à ma connaissance, aucune donnée dans la littérature scientifique.

Parmi les métabolites isolés chez le Rat, figure la N.acétyl.S.diphényl.cystéine ([388]). Sa formation pourrait expliquer la moindre toxicité du diphényle lorsqu'on l'ajoute à un régime enrichi en cystéine ou méthionine.

De toutes ces données expérimentales, on peut dégager les notions essentielles suivantes:

Ce n'est qu'au dessus de la concentration de 1 g/Kg de régime que l'administration prolongée de diphényle provoque, chez le Chien ou le Singe, des effets nocifs traduisant une atteinte rénale, mais les essais effectués sur ces espèces étaient à court terme et, par ailleurs, le nombre d'animaux peu élevé; les résultats obtenus doivent donc être interprétés avec prudence.

Chez le Rat, la concentration tolérée dans la plupart des séries expérimentales a été également de 1 g/Kg de régime, mais, dans certaines d'entre elles, en particulier celles de Newell, on observe pour cette concentration un léger effet sur l'excrétion urinaire (polyurie) qui peut s'interpréter comme un début d'atteinte de la fonction rénale. En revanche, on n'observe aucun effet significatif pour la concentration de 0,5 g/Kg, et ceci pour une administration prolongée pendant toute la vie, ce qui confère à ces résultats une valeur certaine pour l'évaluation toxicologique.

Si l'on prend comme base la concentration la plus faible n'ayant provoqué aucun effet nocif, y compris une polyurie discrète, soit 0,5 g/Kg de régime, ceci correspond à 25 mg/Kg de poids corporel par jour.

Pour extrapoler à l'homme, il convient de se souvenir que le diphényle, bien qu'appliqué en surface, pénètre dans la peau des agrumes où il se dissout dans les poches à huile essentielle. De ce fait, il peut se retrouver dans les marmelades et surtout dans les jus préparés par pression des fruits entiers. Or, ces jus de fruits sont consommés couramment par les enfants et les malades, c'est pourquoi une grande prudence est à recommander. Aussi s'impose-t-il, à mon avis, d'appliquer un facteur de sécurité très élevé. Si on retient celui de 500, le calcul donne une dose acceptable chez l'homme pour une absorption prolongée de 0,05 mg/Kg de poids corporel, soit 3,5 mg par jour pour un adulte de 70 Kgs. En tenant compte de ce chiffre, de la répartition du diphényle dans les diverses fractions du fruit, et en particulier de son accumula-

tion dans la peau, et de sa très faible concentration dans la pulpe, en tenant compte également de la quantité moyenne d'agrumes consommée et des modalités de leur consommation comportant le plus souvent le rejet de la partie externe, on peut fixer le maximum de concentration tolérable de diphényle. Le chiffre admis dans les pays de la Communauté Economique Européenne est de 70 mg/Kg de fruits entiers. Aux Etats-Unis et au Royaume-Uni, les chiffres admis sont un peu plus forts, respectivement de 110 et 100 mg/Kg.

ORTHO.PHENYLPHENOL

C'est un agent antimicrobien et fongicide utilisé pour le traitement en surface des fruits et légumes après la récolte. Il a fait l'objet, de la part de Hodge et collaborateurs ([154]), d'expérimentations à court terme chez le Chien et le Rat, ainsi que d'expérimentations à long terme chez ce dernier animal.

L'administration à des lots de 2 Chiens, par voie orale, de doses journalières allant de 20 à 500 mg/Kg de poids corporel, pendant une année, n'a provoqué aucun effet nocif, cependant qu'une dose de 1000 mg/Kg amena, en un mois, la mort des 2 animaux.

A des lots de 10 rats, par moitié mâles et femelles, furent administrées par voie orale, à la sonde, 5 jours par semaine, pendant une période de 6 mois, des doses allant de 50 à 500 mg/Kg. Sauf pour cette dernière dose qui provoqua une légère augmentation du poids du foie et du rein, aucun effet nocif ne fut mis en évidence. Il en fut de même dans une expérimentation où des lots de 24 rats, par moitié mâles et femelles, furent soumis, pendant 3 mois, à des régimes renfermant des concentrations d'o.phénylphénol allant de 0,1 à 1%. Tout au plus, à cette dernière concentration, les auteurs pouvaient-ils s'interroger sur une discrète augmentation de poids du foie, du rein et de la rate chez quelques animaux. En revanche, à la concentration de 2%, fut observé un léger retard de croissance.

Des lots de 50 rats, par moitié mâles et femelles, furent soumis, pendant 2 ans, à la consommation de régimes renfermant respectivement 0,02 et 0,2% d'o.phénylphénol. Aucun effet nocif ne fut observé. A la concentration de 2%, en revanche, ont été constatés un léger retard de croissance et des altérations histologiques au niveau du rein (dilatation tubulaire).

Au cours de ces expériences, il ne fut pas observé d'accumulation du produit, sauf à la concentration de 2% pour laquelle des taux de 22 mg pour 100 g de tissu furent trouvés au niveau du rein.