

Critères de causalité

D5668

Il n'existe malheureusement pas de méthode suffisante en mesure de prouver qu'une association entre un facteur et une maladie en est une de cause à effet. En revanche, on peut trouver certaines indications, telles que celles définies en 1843 par le philosophe John Stuart Mill dans son manuel intitulé *A System of Logic*.

En 1965, Austin Bradford Hill les a adaptées (avec des suggestions d'autres sources) en une série de critères pour évaluer les rapports épidémiologiques (Bradford-Hill A. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med* 1965;58:295-300). Ceux-ci sont cités fréquemment et de nombreux auteurs ayant réexaminé ces critères, il en existe différentes versions, certaines comptant neuf critères, d'autres sept (les différences ne portant que sur des détails).

Critère :	Commentaires :
1. Relation temporelle : L'exposition à la cause présumée doit précéder l'apparition de la maladie.	Cela est généralement accepté, bien que la date de l'apparition initiale de certaines maladies puisse parfois être difficile à établir, lorsqu'elles ont de longues périodes de latence.
2. Force de l'association : Si toutes les personnes atteintes d'une maladie ont été exposées à l'agent pathogène présumé, mais que très peu de celles faisant partie du groupe-témoin l'ont été, l'association est forte. En termes quantitatifs, plus le <u>risque relatif</u> est important, plus l'association risque d'être causale.	Ce critère peut être contesté. La force dépend largement du nombre d'autres facteurs dont il faut également tenir compte et de la façon dont ils sont contrôlés dans une étude. Une association forte peut aussi encore découler d'un résultat de <u>confusion</u> . Prenons par exemple l'association forte entre l'ordre de naissance et le risque du syndrome de Down : la maladie est effectivement imputable à l'âge de la mère au moment de la naissance de l'enfant.
3. Intensité ou durée de l'exposition (également appelée gradient biologique ou relation dose-réponse) : Lorsque les personnes ayant connu l'exposition la plus forte ou la plus longue à l'agent pathogène sont celles qui sont frappées le plus gravement ou le plus fréquemment par la maladie, alors que celles qui y ont été moins exposées ne sont pas aussi malades, il est alors plus vraisemblable que l'association soit causale.	Un critère raisonnable s'il est présent, mais qui peut ne pas s'appliquer en cas de rapports limites (ou non-linéaires). L'absence d'une dose-réponse ne réfute donc pas la causalité.
4. Spécificité de l'association : Si on découvre qu'un agent ou un facteur de risque est constamment relié uniquement à la maladie étudiée, il apparaît vraisemblable qu'une relation causale existe.	Toutefois, ce critère est faible et découle d'une extrapolation avec les maladies infectieuses. Une relation causale est établie entre des facteurs tels que le tabagisme ou l'obésité et plusieurs maladies. L'absence de spécificité ne porte aucunement atteinte à une interprétation causale.
5. Fiabilité des résultats : Une association est fiable lorsqu'elle est confirmée par différentes études. Elle est encore plus probante si ces études ont été menées auprès de populations différentes.	Un bon critère, bien qu'il puisse nous inciter à manquer des rapports de cause à effet qui s'appliquent uniquement à une minorité de gens.
6. Plausibilité ou cohérence des résultats : Avons-nous une explication biologique (ou comportementale, etc.) pour l'association observée? Les preuves provenant des animaux de laboratoire, les effets analogues provoqués par des agents analogues et l'information recueillie grâce à d'autres systèmes d'expérimentation et d'autres méthodes d'observation font partie des preuves dont il faut tenir compte.	Un bon critère, mais qui peut néanmoins être subjectif : ultérieurement, il peut parfois expliquer un résultat imprévu.
7. Fin de l'exposition . Si le facteur causal est retiré de la population, la morbidité incidente de la maladie devrait diminuer.	Cela peut fonctionner pour une population, mais la pathologie n'est pas toujours réversible dans le cas d'un individu.

La force de la présomption de causalité de l'association est directement proportionnelle au nombre de critères satisfaits dans un cas donné.

Annexe 1 : Données sur la toxicité du cuivre

Données générales

Le cuivre (Cu) est le vingt-sixième élément le plus abondant dans la croûte terrestre; il est présent à l'état naturel dans les roches, le sol, les sédiments, l'eau, les végétaux et les animaux. Il se rencontre surtout sous forme de sulfures CuS et Cu₂S dans la tétrahédrite (Cu₁₂Sb₄As₁₃) et l'énargite (Cu₃As₄) et sous forme d'oxyde Cu₂O (cuprite). Le cuivre pur est un métal brillant, malléable et ductile de couleur rougeâtre, mais bon nombre des composés de cuivre sont de couleur cyan. Le cuivre est souvent présent sous forme de minéraux sulfurés variés et il est considéré comme un élément essentiel au maintien de la santé.

Les différentes formes de Cu ayant un numéro CAS sont : Le cuivre Cu (n° CAS 7440-50-8), l'acétate de cuivre Cu(CH₃COO), le chlorure cuivreux CuCl et cuivrique Cu Cl₂, l'hydroxyde de cuivre Cu(OH)₂, l'oxyde cuivreux Cu₂O et cuivrique CuO, le sulfate de cuivre CuSO₄ (n° CAS 7758-98-7).

Les rejets de cuivre proviennent de sources naturelles (incluant les volcans, les végétaux en décomposition et les feux de forêts) et de sources anthropiques telles que l'exploitation minière, l'agriculture, les opérations de fabrication et la combustion de combustibles et d'autres matériaux contenant du cuivre. Les mines de cuivre sont largement exploitées en vue de la fabrication de laiton, de bronze, de bronze à canon et d'alliage Monel. Les alliages de cuivre entrent dans la fabrication de tôle, de tuyauterie et de conducteurs électriques; les fils électriques et autres applications électroniques représentant 65 % de la consommation mondiale de cuivre. Le cuivre et ses alliages sont également utilisés pour la fabrication d'ustensiles de cuisson, de pièces de monnaie, de peintures antisalissure, d'amalgames dentaires et de tuyaux et accessoires de plomberie, ainsi que dans diverses applications architecturales telles des couvertures, des gouttières et des solins. Certains composés du cuivre sont d'importants constituants chimiques dans les industries du textile, du raffinage du pétrole, de la préservation du bois et de l'agriculture.

Toxicocinétique

Le taux d'absorption par voie orale est très variable, de 15 à 97 % et dépend de plusieurs facteurs, notamment la quantité de cuivre dans les aliments. L'absorption est de l'ordre de 50% pour les doses proches des ANC et diminue pour des doses plus fortes. La présence d'autres métaux tels que le zinc, le fer, le molybdène, le plomb et le cadmium, ainsi que l'âge influent aussi l'absorption du Cu. L'absorption digestive a lieu principalement au niveau de l'estomac et du jejunum, la solubilisation du Cu comme celle d'autres oligo-éléments étant favorisée par l'acidité gastrique. Dans l'intestin grêle la présence de ligands comme les mucines, permet d'éviter la formation de précipités d'hydroxydes non biodisponibles, liés à l'augmentation de pH. Le Cu est absorbé par voie active saturable au moyen de transporteurs membranaires comme l'ATPase-7A. On peut noter ici une l'interaction négative qu'exerce le Cu sur le Fe alimentaire en limitant son absorption. Le cuivre absorbé est transporté vers le foie majoritairement par les albumines mais aussi par la transcupréine ou l'histidine. Il est ensuite absorbé dans le foie ou il peut être soit stocké par liaison aux métallothionéines, soit incorporé à la céruloplasmine, soit sécrété dans l'intestin grêle via la bile. La protéine ATPase-7B joue un rôle central dans le transport hépatique du Cu, en particulier pour l'exportation dans la bile. Le transport vers les autres organes est donc assurée par la céruloplasmine qui est une alpha 2 glycoprotéine transportant plus de 90% du Cu circulant.

Cette protéine peut incorporer 8 atomes de Cu, le gène codant est le 3q23-q24. Dans les tissus le Cu est aussi stocké sous forme liée à la métallothionéine et à des acides aminés. La bile est donc la principale voie d'excrétion du cuivre. Jusqu'à 70 % du cuivre ingéré par voie orale peut être excrété dans les fèces et de 0,5 à 3,0 % de l'apport quotidien de cuivre est normalement excrété dans l'urine. La demi-vie biologique du Cu dans le sang est de 13 à 33 jours après ingestion de 0,29 mg de Cu. Parmi les autres voies mineures d'excrétion, on compte la salive, la sueur, l'écoulement menstruel et l'excrétion dans l'intestin à partir du sang. Dans les cas graves, la salive peut prendre une couleur verte ou bleue.

Il faut signaler le cas particulier de la maladie de Wilson qui apparaît dans le cas de mutation du gène codant pour l'ATPase-7B, induisant une incapacité de la cellule hépatique à évacuer le Cu par le pôle biliaire ainsi qu'une baisse de la synthèse de céruloplasmine circulante. Le défaut de cette protéine induit aussi une accumulation de Cu dans le SNC. Si la prévalence de cette maladie est faible (1/25000), les symptômes liés à l'accumulation de Cu dans le foie et le cerveau peuvent se rapprocher de ceux correspondant aux fortes expositions chroniques en Cu.

Propriétés fonctionnelles du Cu

Le Cu est essentiel à de nombreux processus physiologiques et voies métaboliques, notamment pour la formation d'hémoglobine et la maturation des polynucléaires neutrophiles. De plus, il est un co-facteur spécifique de nombreuses enzymes et métalloprotéines de structure et intervient dans la qualité des cartilages, la minéralisation osseuse, la régulation de neurotransmetteurs, la fonction cardiaque, le métabolisme glucidique, les mécanismes immunitaires et le métabolisme du fer.

Le Cu comme le Fe à l'état ionique est capable *in vitro* de catalyser la formation de dérivés réduits de l'oxygène, ion superoxyde (O_2^-), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et radicaux hydroxyle (OH^\cdot). Ces dérivés de l'oxygène sont très toxiques pour la cellule, puisqu'ils peuvent provoquer l'induction et la propagation de la peroxydation des lipides, en particulier celle des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires et l'oxydation de l'ADN (en particulier le OH^\cdot). *In vivo*, la forme ionique du Cu est très largement minoritaire et le Cu est majoritairement lié à des cuproprotéines. Sous cette forme, le Cu exprime ses fonctions, dont celle de défense de l'organisme contre les stress oxydants

La superoxyde dismutase (SOD), cytoplasmique ou extra cellulaire, est une enzyme contenant à la fois du Cu et du Zn. Elle contribue à la protection des cellules contre l'ion superoxyde en catalysant sa dismutation en peroxyde d'hydrogène. De plus, la synthèse de la glutathion peroxydase à sélénium (Se) et celle de la catalase, sont régulées par le Cu. La céruloplasmine, globuline contenant 8 atomes de Cu, représente plus de 90% du Cu circulant dans le plasma. Synthétisée dans le foie, elle assure le transport du Cu vers les organes via le plasma sanguin et serait impliquée dans le transport du Cu de la mère au fœtus. La céruloplasmine joue un rôle dans l'érythropoïèse en assurant la catalyse de l'oxydation de Fe^{2+} , tel qu'il est présent dans les hépatocytes, en Fe^{3+} , préalable indispensable à son intégration dans la transferrine. Elle favoriserait également l'incorporation de Fe dans une protéine de réserve, la ferritine. En limitant la production de composés oxygénés réactifs lors de l'oxydation du Fe ferreux en Fe ferrique, donc en inhibant la peroxydation des lipides induite par les ions métalliques, la céruloplasmine participerait à la protection contre les stress oxydants. Elle est également un modulateur des inflammations.

Le Cu est impliqué dans de nombreuses autres fonctions puisqu'il est un constituant, entre autres, de la cytochrome c oxydase de la chaîne respiratoire, de la lysyl oxydase, qui permet la réticulation entre les chaînes peptidiques qui forment les molécules d'élastine et de collagène

et leur confère leurs qualités d'insolubilité et d'élasticité, de la dopamine-b-monoxygénase, nécessaire à la production de catécholamines.

Les liaisons non spécifiques du Cu^{2+} aux enzymes riches en thiols peuvent modifier leurs activités catalytiques. Ainsi la cytotoxicité du cuivre observée lors d'une intoxication se ferait par inhibition enzymatique du système pyruvate-oxydase par compétition au niveau des groupements sulfhydriles des protéines. La glucose-6-phospho-deshydrogénase et la glutathion-réductase sont inhibées (inhibition compétitive) proportionnellement à la concentration intracellulaire du cuivre.

La réponse de l'activité ALAD dans l'érythrocyte humain impliquée dans la synthèse de l'hème (marqueur important de l'intoxication au plomb), est aussi sensible à des métaux comme le Zn et le Cu avec une réponse biphasique présentant une activation pour de faibles doses et une inhibition possible pour des concentrations plus fortes. Les métaux n'affectent pas seulement différentes étapes de la synthèse de l'hème mais peuvent aussi affecter sa dégradation, via une induction de l'hème oxygénase microsomale qui catalyse la conversion de l'hème en biliverdine. Les monoxygénases à cytochrome P450 sont des hémoprotéines qui sont aussi riches en thiols qui se lient aux substrats dans la première étape du cycle catalytique du système à CYP450 impliqué dans le métabolisme des xénobiotiques lipophiles. Ainsi les ions Cu ont la capacité d'oxyder et de se lier aux résidus cystéines de cette monoxygénase, altérant ainsi l'activité du système CYP450. L'inhibition de cet enzyme clef du métabolisme des substances endogènes (comme les hormones stéroïdes) et des xénobiotiques (médicaments...) peut donc avoir de nombreuses conséquences chez la personne intoxiquée.

De plus, le cuivre en excès produit des radicaux libres responsables de lésions cellulaires au niveau de l'ADN et d'organites tels que les mitochondries ou les lysosomes.

Interactions avec les autres minéraux

a / fer

On a vu que la céruloplasmine intervient comme catalyseur de l'oxydation du fer ferreux (Fe^{2+}) en fer ferrique (Fe^{3+}) et favorise également l'incorporation de Fe dans la ferritine. Ainsi, en limitant la production de composés oxygénés réactifs lors de l'oxydation du Fe ferreux en Fe ferrique, donc en inhibant la peroxydation des lipides induite par les ions métalliques, la céruloplasmine participerait à la protection contre les stress oxydants.

D'autre part l'hémolyse induite par un apport excessif de Cu alimentaire peut présenter des signes d'anémie de même type que dans le cas de la carence en Cu. Cependant, son origine est différente puisqu'elle est due à l'interaction négative qu'exerce le Cu sur le Fe alimentaire en limitant son absorption. L'apparition de signes d'anémie s'accompagne d'une diminution des réserves hépatiques et rénales en Fe.

b / Zinc

Le Zn est connu pour son effet antagoniste sur le Cu. Dans le cas d'une surcharge en Zn, on note l'induction de la synthèse de métallothionéines qui séquestrent le Cu dans l'anthérocyte, empêchant son transfert vers la séreuse. Dans le cas d'un excès de Cu il entre en compétition avec le Zn au niveau des métallothionéines de transport induisant une diminution de sa concentration sérique. Chez le porc la supplémentation de l'alimentation en Fe et Zn peut fortement diminuer la réponse toxique au Cu.

c / Se Le sélénium est un élément essentiel au fonctionnement de plusieurs protéines et enzymes de l'organisme, en particulier la GPx impliquée dans la défense contre le stress oxydatif. Une étude d'interaction entre Cu et Se chez le rat a montré qu'une forte exposition au Cu diminue fortement sa rétention au niveau des tissus comme le foie et les reins. Ce

processus est dose dépendant. Parallèlement l'activité GPx diminue dans le foie, les reins et le sang. La diminution de la rétention du Se entraîne une augmentation du Se libre en particulier au niveau plasmatique et urinaire.

d / Autres interactions

Chez l'homme l'excrétion urinaire de Cu est influencée par la prise de Mo. Une forte prise de Mo provoque une forte excrétion de Cu. Le Se peut diminuer la toxicité du Cu. Les médicaments susceptibles d'affecter le métabolisme du Cu incluent le Phénobarbital, la phénytoïne en augmentant la teneur du sérum en céruloplasmine par induction de plusieurs enzymes hépatiques. Une substance comme la morphine peut augmenter la concentration en Cu dans le SNC. Une famille de pesticides, les dithiocarbamates, inhibent l'excrétion biliaire du Cu chez le rat affectant la distribution dans les organes.

Effets toxiques

Les principales formes toxiques chez l'homme et l'animal sont les formes solubles du cuivre c'est-à-dire les sels du cuivre II (acétate, carbonate, chlorure, hydroxyde, nitrate, oxyde, oxychlorure et sulfate).

Lorsque la capacité d'excrétion du Cu via la bile est dépassée, le Cu alimentaire en excès est stocké dans le foie sans effets cliniques détectable. Lorsque les capacités de stockage du foie sont dépassées, le Cu est relargué dans la circulation, conduisant à une phase dite hémolytique qui apparaît soudainement et se manifeste par des retards de croissance, une hémoglobinurie et se termine par une jaunisse précédant la mort.

Les fortes doses de Cu peuvent donc avoir des effets nocifs, mais il est rare que l'on observe des effets toxiques dus au cuivre dans la population en général. Les patients en hémodialyse, les personnes atteintes de la maladie de Wilson, ainsi que les personnes atteintes de troubles hépatiques chroniques pourraient être plus sensibles aux effets toxiques du cuivre.

Inhalé, le cuivre est un irritant respiratoire mais les cas d'intoxications aiguës par voie orale sont rares et généralement dus à des contaminations de boissons ou à des ingestions accidentelles ou volontaires (suicides) de grandes quantités (de 0,4 à 100 g de cuivre) de sels de cuivre II et notamment de sulfate de cuivre. Les cas d'intoxications par l'eau de boisson correspondent également à des doses élevées, de 35 à 200 mg/L, de cuivre.

Les effets toxiques observés sont des vomissements, une léthargie, une anémie profonde liée à une hémolyse intra-vasculaire, une rhabdomyolyse. Surviennent secondairement une cytolysse hépatique par nécrose centrolobulaire et une insuffisance rénale aiguë (possible par simple nécrose tubulaire aiguë. Le syndrome dysentérique par toxicité directe sur la muqueuse digestive est responsable parfois d'hémorragies digestives. Les pertes hydro-électrolytiques peuvent s'accompagner d'une insuffisance rénale.

Par voie orale, un grand nombre de données de dose létale 50 % (DL50) sont disponibles chez l'animal. En fonction de l'espèce et du sel de cuivre étudié, les valeurs de DL50 sont comprises entre 15 et 857 mg de cuivre/kg de poids corporel.

De nombreux cas d'intoxication chroniques au Cu par différents vecteurs d'exposition ont été rapportés. Nous résumerons ici les effets observés.

- Exposition professionnelle par voie aérienne : Une irritation des voies aériennes supérieures et des troubles gastrointestinaux (anorexie, nausée, diarrhée) sont reportés ainsi qu'une diminution du taux d'hémoglobine et du nombre d'érythrocytes

- Intoxications par l'eau de boisson : Gout « métallique » dans la bouche, troubles gastro-intestinaux (réversibles) pour des concentrations supérieures à 3 mg/l. Chez deux enfants ayant absorbé de l'eau de boisson contenant de 2,2 à 3,4 mg/L de cuivre pendant une période de moins de 9 mois, ont présenté une hépato-splénomégalie marquée associée à des taux sériques élevés de transaminases et bilirubine.
- Intoxication par des médicaments avec une exposition journalière de 60 mg de cuivre pendant une longue période (2ans) : Cirrhose micronodulaire et une insuffisance hépatique. Les taux sériques de cuivre et de céruloplasmine étaient normaux mais le patient présentait une excrétion urinaire de cuivre très élevée (207 mmol/24 heures versus 1,2 nmol/24 heures).
- Autres effets cliniques observés : Nécrose hépatique centrolobulaire, nécrose tubulaire rénale, anémie hémolytique aiguë associée à des taux sérique et urinaire élevés en cuivre, pour des doses de l'ordre du g/j. Quelques cas cliniques décrivent une atteinte néphrotoxique au niveau des tubules entraînant hématurie, glycosurie, cylindrurie et protéinurie. Les doses impliquées étaient supérieures à 100 mg/kg.

Chez les rongeurs l'exposition au Cu entraîne des effets hépatiques, rénaux et une altération des fonctions de reproduction.

- Les principaux signes hépatiques sont de natures histologiques et enzymatiques. Ces effets se manifestent pour des doses de l'ordre de 10 mg/kg/j.
- Les signes histologiques et biochimiques d'atteinte tubulaire apparaissent pour des traitements long terme pour des doses de Cu supérieure à 10 mg/kg/j.
- Les atteintes aux fonctions de reproduction se traduisent par des modifications du sperme (histomorphologiques, mobilité), du poids des testicules et des taux circulants d'hormones sexuelles. D'autre part on note une augmentation de la mortalité fœtale et des anomalies du développement sont observées chez des fœtus. Les effets portent sur le poids de naissance, sur le poids des organes la biochimie sanguine et retards d'ossification des nouveau-nés de souris. Ces effets sont obtenus pour des doses supérieures au mg/kg/j en sulfate de Cu.

Sur le processus inflammatoire

- Le cuivre accroît la synthèse de $Pc2GiF$ à activité anti-inflammatoire et abaisse celle des $P2GE$ antagonistes ; en outre, il active la superoxyde dismutase qui « balaie » les ions superoxyde résultant de l'activité des phagocytes et il stabilise les membranes lysosomales.

Effets sur le métabolisme

- S'il est admis de longue date que le Cu est utilisé comme facteur de croissance en élevage animal a des doses supérieures aux ANC. Cependant l'utilisation de fortes entraîne une diminution de la croissance. Dans ces cas de surexposition chronique on observe une modification des paramètres sanguins lipidiques. On note en particulier une diminution significative de la cholestérolémie de 10 à 20% suivant la dose d'exposition.

Effets sur les dents

- En cas d'intoxication au Cu il y a addition de deux processus d'atteintes pour le tissu dentaire : Une agression directe corrosive oxydative du Cu libre contenu dans la salive et une atteinte aux protéines (activité thioloprives) sur les plans structurels et fonctionnels (dentine). Une étude récente en imagerie à rayons X à fluorescence a montré sur des sections de dents humaines, une concentration accrue du cuivre et du zinc dans des régions carieuses de la dentine par rapport à des portions non affectées de la dent. En fait comme dans l'os, le cuivre a été transporté vers les dents et se localise principalement dans les tubules de dentine. Ainsi une relation entre teneur en

Cu de la salive et nombre de caries dentaires a été établie depuis les années soixante dix.

Le CIRC n'a pas évalué le pouvoir cancérigène du cuivre et l'US EPA en 1988 a conclu que l'absence de données chez les humains et l'insuffisance de données chez les animaux ne permettaient pas d'évaluer le pouvoir cancérigène du cuivre et de ses composés.

Cas d'une intoxication aiguë par le CuSO₄

Les effets apparaissent pour une ingestion supérieure à 1 g de Cu. Le Cu inorganique s'accumule dans les érythrocytes affectant la perméabilité membranaire et induisant une fragilité osmotique à la fois par atteinte membranaire et par stress oxydatif. L'hémolyse est suivie par une méthémoglobinémie apparente se traduisant par une cyanose dépendante du taux niveau de la méthémoglobinémie. Les complications rénales plus tardives sont liées à l'effet direct du Cu sur l'épithélium tubulaire proximal. Il s'en suit une diminution de la perfusion secondaire et une hypovolémie associée à une hémolyse intravasculaire.

Des effets sur le système cardiovasculaire, le système nerveux central, les muscles squelettiques, ou le système endocrinien sont rarement décrits dans le cas d'intoxications aiguës au CuSO₄.

Cas particulier de la maladie de Wilson, ICC et ICT.

Comme indiqué plus haut la maladie de Wilson est une maladie génétique qui se traduit par une accumulation de Cu dans le foie et le SNC. Le tableau clinique est très polymorphe, associant tremblements, dysarthrie, dystonie, troubles de l'écriture, troubles de la déglutition. Les symptômes neurologiques sont volontiers accompagnés de troubles psychiatriques en particulier de syndromes dépressifs. Des troubles hématologiques à type d'hémolyse, des manifestations rénales (tubulopathies), osseuses (ostéomalacie, ostéoporose, arthropies), cardiaques (cardiomyopathies et arythmies) peuvent faire partie de la symptomatologie générale de la maladie.

Il faut signaler que les atteintes neurologiques sont toujours associées à une maladie de foie (cirrhose asymptomatique) puisque le Cu se dépose d'abord dans le foie et ensuite dans le SNC.

Les ICC (Indian Childhood Cirrhosis) et ICT (Idiopathic Copper Toxicosis) affectent les enfants affectent des très jeunes enfants soit exposés à de fortes quantités de Cu via l'alimentation, soit ayant une susceptibilité héréditaire au Cu. Dans tous les cas on observe une forte hépatotoxicité se traduisant par des modifications histologiques et biochimiques caractéristiques des cirrhoses.

Caractérisation du danger

Une déficience en cuivre induit une réduction des activités des métallo-enzymes auxquelles il est lié. Les ANC, fondés sur un nombre très limité de données, sont estimés entre 1,5 et 2mg/jour pour l'adulte, et entre 0,8 et 1,5mg/j pour l'enfant (soit de 20 à 80 µg/kg/j).

Chez l'homme les effets gastrointestinaux légers apparaissent pour des doses supérieures à 10 µg/kg/j en ingestion unique. Des effets chroniques plus sévères (vomissements, crampes abdominales) apparaissent pour des doses de 30 µg/kg/j. Les effets chroniques hépatiques apparaissent pour des doses supérieures à 100 µg/kg/j.

Pour ce qui concerne les VTRs leur établissement a été sujet de discussion suivant l'étude pivot choisie et les facteurs de sécurité appliqués. En 1998 l'OMS proposait une DJT provisoire de 0,5 mg/kg/j, sans explications précises sur sa construction (facteurs de sécurité).

Sur la base d'une LOAEL chez la souris de 4 mg/kg/j on aurait une VTR de 4 µg/kg et par jour par application d'un facteur de sécurité de 1000. Or cette valeur est inférieure à l'ANC. De même l'ATSDR propose un MRL (Minimum risk level) de 10 µg/kg/j pour une exposition aiguë ou subchronique par voie orale, elle aussi inférieure à l'ANC. Si on part d'un NOAEL de 14 µg/kg/j chez le vison on obtient une VTR de 140 µg/kg/j par application du facteur de sécurité de 100. C'est cette valeur proposée par le RIVM qui est généralement retenue, couvrant à la fois les risques pour la reproduction et l'hépatotoxicité. Aujourd'hui la VTR la plus sérieuse retenue est celle du RIVM. De son côté Santé Canada fixe des AMT pour le cuivre à 1 mg/jour pour les enfants de 1 à 3 ans, à 3 mg/jour pour les enfants de 4 à 8 ans, à 5 mg/jour pour les enfants de 9 à 13 ans, à 8 mg/jour pour les adolescents (14 à 18 ans) et à 10 mg/jour pour les adultes.

Pour ce qui concerne l'eau potable, Santé Canada (1992) a établi l'objectif technique à ≤ 1 mg/l, cet objectif visant à assurer l'appétibilité de l'eau et à éviter la formation de taches sur les accessoires de lessive et de plomberie. Cette recommandation a aussi été jugée suffisante pour protéger contre les effets nocifs sur la santé, le niveau de 3 mg/l étant jugé comme limite.

Exposition alimentaire

Pour la population en général, les aliments constituent la principale source d'exposition au cuivre, bien que l'exposition puisse aussi résulter de l'inhalation de particules de poussières, de l'ingestion d'eau potable contenant du cuivre ou du fait de porter ses mains à la bouche après que le peau est entrée en contact avec le sol, l'eau ou d'autres substances contenant du cuivre. Le cuivre est un élément nutritif essentiel pour les humains, qui sert principalement de cofacteur catalytique pour les enzymes; une certaine quantité de cuivre est donc nécessaire pour la croissance et le bon fonctionnement des processus physiologiques. Les besoins moyens estimatifs de cuivre varient de 260 µg/jour pour les jeunes enfants à 1 000 µg/jour durant l'allaitement; l'apport nutritionnel recommandé (ANR) varie de 340 µg/jour pour les jeunes enfants à 1 300 µg/jour durant l'allaitement et l'apport suffisant (AS) pour les bébés (0 à 12 mois) se situe entre 200 et 220 µg/jour. Bien que relativement rare, la carence patente en cuivre a été associée à des effets tels que l'anémie, la neutropénie et des anomalies osseuses.

Dans la dernière étude ANSES EAT2, l'apport moyen de cuivre de la population française est estimé à 1,94 mg/jour chez les adultes (1,63-2,23) et 0,93 mg/jour chez les enfants (0,86-1,02). Au 95e percentile, il est estimé à 4,11 mg/jour chez les adultes (2,93-5,26) et 1,73 mg/jour chez les enfants (1,44-2,57).

Chez les adultes, le contributeur majoritaire à l'apport de cuivre est le café (36%), chez les enfants, les contributeurs majoritaires sont les pâtes (13 %). La limite de sécurité est dépassée par 2,6% des adultes et 0,8 % des enfants.

Jean-François NARBONNE

Affaire A.M. SINGER N° Parquet 02/3384, N° d'instruction 2/02/15

Annexe 2 : Biomarqueurs qualifiant l'exposition et les effets du Cuivre

Deux évolutions capitales ont amené une amélioration décisive dans l'étude des relations entre un vecteur d'exposition et les effets induits: il s'agit d'une part des progrès des techniques d'analyse chimique (en particulier pour ce qui concerne la spéciation et les seuils de détection) et d'autre part le développement des connaissances en toxicologie moléculaire permettant une meilleure compréhension des mécanismes d'action. Ainsi nous disposons maintenant à la fois de techniques analytiques performantes pour mieux quantifier l'exposition et d'outils biologiques pour mieux évaluer les effets induits. Ce sont ces outils qui constituent la base des biomarqueurs d'exposition et d'effet. Ces biomarqueurs permettent une approche intégrée des différentes sources et voies d'exposition, et ainsi de mieux appréhender l'exposition globale, la dose interne et les risques sanitaires encourus. Leur intégration dans les programmes de biosurveillance vise à fournir des informations aux acteurs de santé publique, médecins et scientifiques pour les aider à identifier l'existence d'une exposition à certains polluants de l'environnement, faciliter l'identification de leurs sources et prévenir les maladies ou symptômes pouvant provenir d'une telle exposition. De plus ces programmes permettent de mieux situer les valeurs de bases de ces marqueurs pour la population générale.

Facteur de causalité

Les conséquences sanitaires d'une surexposition à des substances toxiques se traduisent par l'apparition de signes correspondant à des atteintes anatomiques et fonctionnelles. La constatation de ces signes est en fonction des outils et techniques mises en œuvre, allant des signes cliniques externes à l'analyse de l'expression des gènes. Dans l'établissement de la mise en évidence d'une relation entre l'exposition à une substance et ses effets toxiques la pertinence des éléments biologiques recherchés est essentielle. En effet dans la plupart des cas, les signes cliniques et biologiques ne sont pas spécifiques. Quand ils sont pris séparément, chaque effet peut être attribué à plusieurs facteurs de causalité. Par exemple du fait de sa fonction métabolique essentielle, de nombreuses intoxications se traduisent par une atteinte hépatique. Ainsi une cirrhose peut être aussi bien causée par un virus, un alcoolisme chronique ou une exposition professionnelle à des solvants. De même des effets neurologiques et comportementaux (céphalées, vomissements, dépression, perte de libido...) ne sont pas spécifiques d'une cause chimique, environnementale ou sociologique. En dehors de cas très particuliers (comme l'amiante par exemple) l'établissement d'un facteur de causalité ne peut être établi que par l'établissement d'un « profil » utilisant une large palette de paramètres. On sait par exemple aujourd'hui que pour une substance chimique il y a une multitude de cibles biologiques se traduisant par une multitude de signes dépendants de la dose et du temps d'exposition ainsi que de facteurs environnementaux et de susceptibilité. Il s'agit donc de relier entre eux des indices pour en faire des marqueurs servant de base à l'établissement du facteur de causalité. C'est d'ailleurs une des critères de Bradford-Hill dénommé « plausibilité, basé sur l'existence de bases théoriques pour l'établissement d'une association entre un vecteur et une maladie ». Ce critère d'ailleurs est donné comme plus important que le critère de « spécificité, consistant à relier une simple cause à un simple effet ». Il est d'ailleurs précisé qu'un effet spécifique renforce le lien de causalité, mais que l'absence de spécificité ne doit en aucun cas servir à nier une relation de causalité. En fait la relation entre une cause et un effet constitue une exception du fait de l'implication de facteurs